



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 105143245 B

(45) 授权公告日 2021.02.05

(21) 申请号 201480019858.0

(22) 申请日 2014.01.30

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 105143245 A

(43) 申请公布日 2015.12.09

(30) 优先权数据  
61/758,875 2013.01.31 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2015.09.30

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/IL2014/050106 2014.01.30

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02014/118779 EN 2014.08.07

(73) 专利权人 耶路撒冷希伯来大学伊森姆研究  
发展有限公司  
地址 以色列耶路撒冷

(72) 发明人 梅塔尔·雷切斯

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理  
有限公司 11262

代理人 李平 郑霞

(51) Int.Cl.  
C07K 5/06 (2006.01)  
C07K 5/08 (2006.01)  
C09D 5/00 (2006.01)

(56) 对比文件  
US 2006241281 A1, 2006.10.26  
WO 2008089032 A1, 2008.07.24  
WO 2011122392 A1, 2011.10.06  
Michèle Bois-Choussy. Total Synthesis  
of an Atropdiastereomer of RP-66453 and  
Determination of Its Absolute  
Configuration.《Angew. Chem.》.2003,第42卷  
(第35期),4370 -4373.

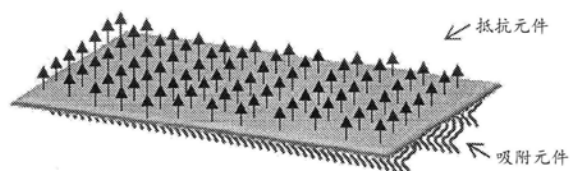
审查员 吕健

权利要求书6页 说明书50页 附图19页

(54) 发明名称  
防垢材料

(57) 摘要

本文提供的本发明呈现了基于羟基化的和  
氟化的化合物的防垢剂的新颖的家族。



1. 一种肽, 包含至少两个氨基酸, 所述氨基酸中的至少一个是3,4-二羟基-L-苯丙氨酸DOPA并且所述氨基酸中的至少另一个是至少一个氟化的芳族氨基酸, 其中所述肽由2至8个氨基酸组成且每一个氨基酸是芳族氨基酸, 所述DOPA与所述至少一个氟化的芳族氨基酸直接结合或经由氨基酸连接基连接。

2. 根据权利要求1所述的肽, 所述肽是防垢的。

3. 根据权利要求1所述的肽, 其中所述至少一个氟化的芳族氨基酸与所述至少一个DOPA结合。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的肽, 其中每个氨基酸经由肽键与所述另一个氨基酸结合。

5. 根据权利要求1至3中任一项所述的肽, 其中所述氨基酸中的至少两个通过共价连接基彼此结合。

6. 根据权利要求1所述的肽, 所述肽具有通式A-L-F, 其中A是DOPA, L是连接A和F的共价键或氨基酸连接基部分, 并且F是氟化的芳族氨基酸部分。

7. 根据权利要求6所述的肽, 其中所述氨基酸连接基部分为两个或更多个芳族氨基酸。

8. 根据权利要求1所述的肽, 所述肽包含两个或更多个DOPA部分。

9. 根据权利要求1所述的肽, 所述肽包含两个或更多个氟化的芳族氨基酸。

10. 根据权利要求1所述的肽, 所述肽包含两个或更多个DOPA和两个或更多个氟化的芳族氨基酸部分。

11. 根据权利要求1所述的肽, 所述肽包含一个或更多个DOPA和两个或更多个氟化的芳族氨基酸部分。

12. 根据权利要求1所述的肽, 所述肽包含两个或更多个DOPA和一个或更多个氟化的芳族氨基酸部分。

13. 根据权利要求1-3和6-12中任一项所述的肽, 其中所述氟化的芳族氨基酸选自天然的或非天然的氨基酸、氨基酸类似物、 $\alpha$ -形式或 $\beta$ -形式、和L-氨基酸或D-氨基酸。

14. 根据权利要求4所述的肽, 其中所述氟化的芳族氨基酸选自天然的或非天然的氨基酸、氨基酸类似物、 $\alpha$ -形式或 $\beta$ -形式、和L-氨基酸或D-氨基酸。

15. 根据权利要求5所述的肽, 其中所述氟化的芳族氨基酸选自天然的或非天然的氨基酸、氨基酸类似物、 $\alpha$ -形式或 $\beta$ -形式、和L-氨基酸或D-氨基酸。

16. 根据权利要求1-3、6-12和14-15中任一项所述的肽, 其中所述氟化的芳族氨基酸选自氟化的色氨酸、氟化的酪氨酸、氟化的萘基丙氨酸和氟化的苯丙氨酸。

17. 根据权利要求4所述的肽, 其中所述氟化的芳族氨基酸选自氟化的色氨酸、氟化的酪氨酸、氟化的萘基丙氨酸和氟化的苯丙氨酸。

18. 根据权利要求5所述的肽, 其中所述氟化的芳族氨基酸选自氟化的色氨酸、氟化的酪氨酸、氟化的萘基丙氨酸和氟化的苯丙氨酸。

19. 根据权利要求13所述的肽, 其中所述氟化的芳族氨基酸选自氟化的色氨酸、氟化的酪氨酸、氟化的萘基丙氨酸和氟化的苯丙氨酸。

20. 根据权利要求1-3和6-12中任一项所述的肽, 其中所述氟化的芳族氨基酸选自氟化的苯丙氨酸和/或其衍生物。

21. 根据权利要求4所述的肽, 其中所述氟化的芳族氨基酸选自氟化的苯丙氨酸和/或

其衍生物。

22. 根据权利要求5所述的肽, 其中所述氟化的芳族氨基酸选自氟化的苯丙氨酸和/或其衍生物。

23. 根据权利要求13所述的肽, 其中所述氟化的芳族氨基酸选自氟化的苯丙氨酸和/或其衍生物。

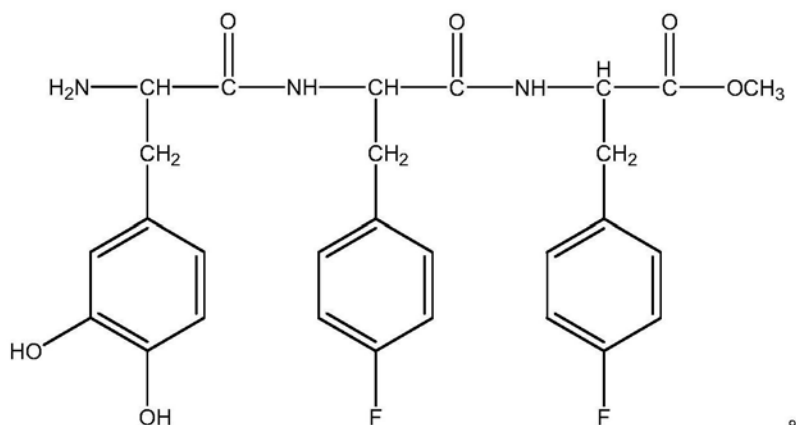
24. 根据权利要求1-3、6-12和14-15中任一项所述的肽, 其中所述氟化的芳族氨基酸衍生自选自以下的化合物: 4-甲氧基-苯丙氨酸、4-氨基亚胺甲基-1-苯丙氨酸、4-氯-苯丙氨酸、3-氰基-苯丙氨酸、4-溴-苯丙氨酸、4-氰基-苯丙氨酸、4-羟甲基-苯丙氨酸、4-甲基-苯丙氨酸、1-萘基-丙氨酸、3-(9-蒎基)-丙氨酸、3-甲基-苯丙氨酸、间脒基苯基-3-丙氨酸、苯基丝氨酸、苄基半胱氨酸、4,4-联苯基丙氨酸、2-氰基-苯丙氨酸、2,4-二氯-苯丙氨酸、3,4-二氯-苯丙氨酸、2-氯-苯丙氨酸、3,4-二羟基-苯丙氨酸、3,5-二溴酪氨酸、3,3-二苯基丙氨酸、3-乙基-苯丙氨酸、3,4-二氟-苯丙氨酸、3-氯-苯丙氨酸、3-氯-苯丙氨酸、2-氟-苯丙氨酸、3-氟-苯丙氨酸、4-氨基-L-苯丙氨酸、高苯丙氨酸、3-(8-羟基喹啉-3-基)-1-丙氨酸、3-碘-酪氨酸、犬尿氨酸、3,4-二甲基-苯丙氨酸、2-甲基-苯丙氨酸、间酪氨酸、2-萘基-丙氨酸、5-羟基-1-萘、6-羟基-2-萘、间硝基-酪氨酸、(β)-β-羟基-1-酪氨酸、(β)-3-氯-β-羟基-1-酪氨酸、邻酪氨酸、4-苯甲酰基-苯丙氨酸、3-(2-吡啶基)-丙氨酸、3-(3-吡啶基)-丙氨酸、3-(4-吡啶基)-丙氨酸、3-(2-喹啉基)-丙氨酸、3-(3-喹啉基)-丙氨酸、3-(4-喹啉基)-丙氨酸、3-(5-喹啉基)-丙氨酸、3-(6-喹啉基)-丙氨酸、3-(2-喹喔啉基)-丙氨酸、苯乙烯基丙氨酸、五氟-苯丙氨酸、4-氟-苯丙氨酸、苯丙氨酸、4-碘-苯丙氨酸、4-硝基-苯丙氨酸、磷酸酪氨酸、4-叔丁基-苯丙氨酸、2-(三氟甲基)-苯丙氨酸、3-(三氟甲基)-苯丙氨酸、4-(三氟甲基)-苯丙氨酸、3-氨基-L-酪氨酸、3,5-二碘酪氨酸、3-氨基-6-羟基-酪氨酸、酪氨酸、3,5-二氟-苯丙氨酸和3-氟酪氨酸。

25. 根据权利要求1所述的肽, 其中所述氟化的芳族氨基酸选自邻氟苯丙氨酸、间氟苯丙氨酸和对氟苯丙氨酸。

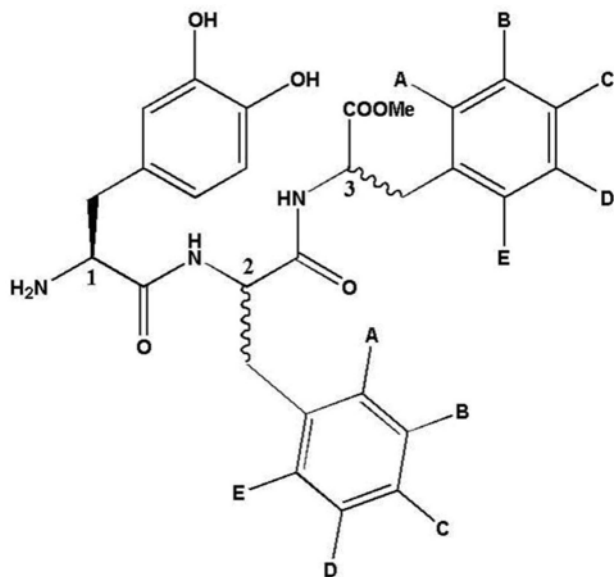
26. 根据权利要求1所述的肽, 所述肽包含在一个末端处的DOPA和在另一个末端处的选自邻氟苯丙氨酸、间氟苯丙氨酸和对氟苯丙氨酸的氟化的芳族氨基酸。

27. 根据权利要求1所述的肽, 所述肽包含沿着所述肽在中点氨基酸处的DOPA和在所述肽的末端的每个处的选自邻氟苯丙氨酸、间氟苯丙氨酸和对氟苯丙氨酸的氟化的芳族氨基酸。

28. 根据权利要求1所述的肽, 所述肽为:



29. 根据权利要求1所述的肽, 所述肽选自肽1、肽2、肽3、肽4和肽5:



肽 1: (1S, 2S, 3S) A=B=D=E= - H, C= - F

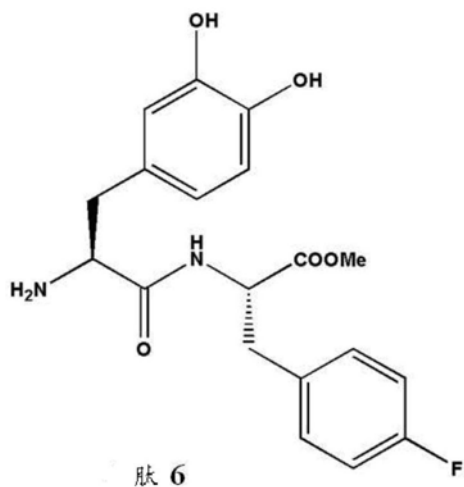
肽 2: (1S, 2S, 3R) A=B=D=E= - H, C= - F

肽 3: (1S, 2R, 3S) A=B=D=E= - H, C= - F

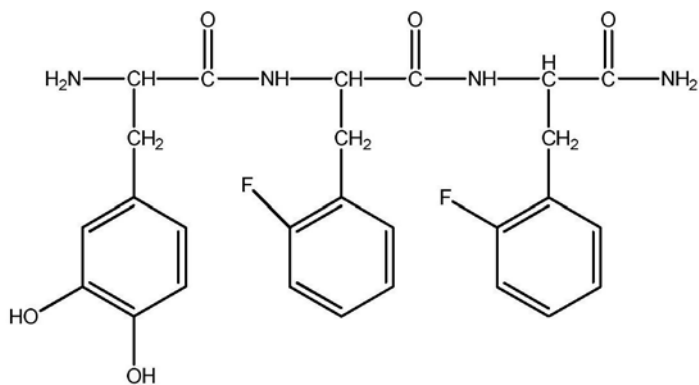
肽 4: (1S, 2R, 3R) A=B=D=E= - H, C= - F

肽 5: (1S, 2S, 3S) A=B=C=D=E= - F

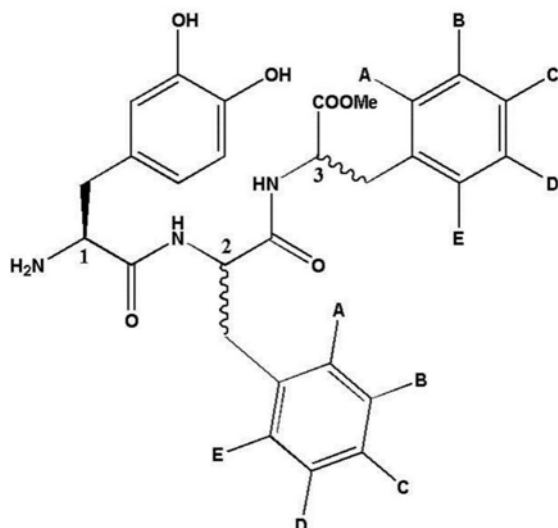
30. 根据权利要求1所述的肽, 所述肽为:



31. 根据权利要求1所述的肽, 所述肽为:



32. 根据权利要求1所述的肽, 所述肽选自肽7、肽8、肽9和肽10:



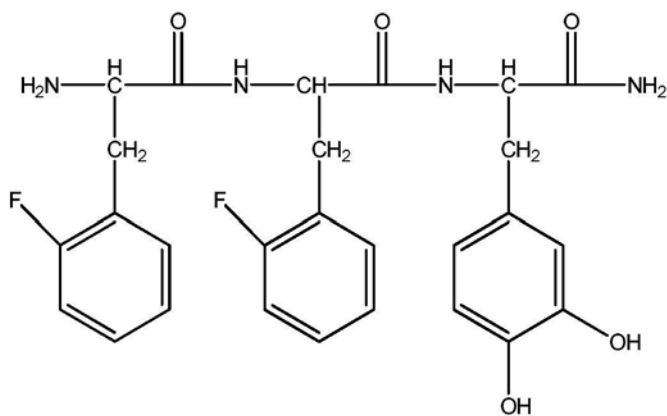
肽7: (1S, 2S, 3S) A=B=C=D=-H, E=-F

肽8: (1S, 2S, 3R) A=B=C=D=-H, E=-F

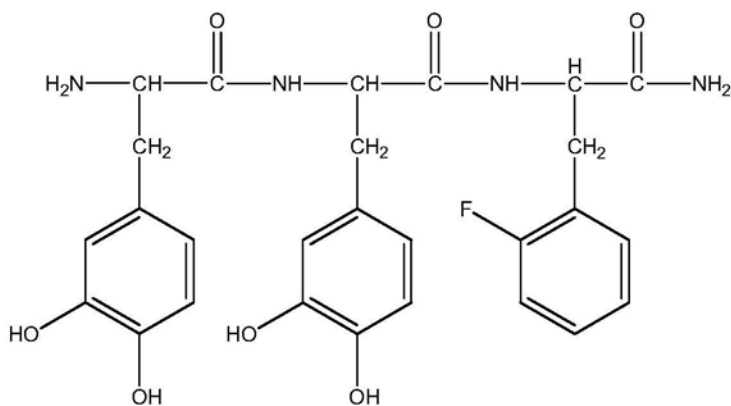
肽9: (1S, 2R, 3S) A=B=C=D=-H, E=-F

肽10: (1S, 2R, 3R) A=B=C=D=-H, E=-F。

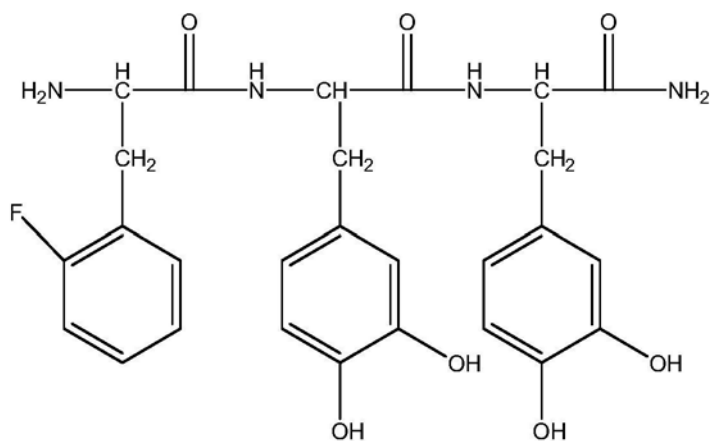
33. 根据权利要求1所述的肽, 所述肽为:



34. 根据权利要求1所述的肽, 所述肽为:



35. 根据权利要求1所述的肽, 所述肽为:



36. 根据权利要求1所述的肽,所述肽选自:

$\text{NH}_2\text{-L-DOPA-L-(4-F)-Phe-COOH}$  肽15

$\text{NH}_2\text{-L-DOPA-D-(4-F)-Phe-COOH}$  肽16

$\text{NH}_2\text{-L-DOPA-L-(4-F)-Phe-L-(4-F)-Phe-COOMe}$  肽17。

37. 根据权利要求1到36中任一项所述的肽在制备防垢剂中的用途。

38. 根据权利要求37所述的用途,用于防止或抑制或最小化或减少以下中的一种或更多种:

- (a) 有机和/或生物有机材料吸附至表面;
- (b) 蛋白质和/或多糖和聚脂质吸附至表面;
- (c) 从多有机体或微生物的细胞分泌至表面上;以及
- (d) 多有机体或微生物的细胞吸附至表面。

39. 一种制剂,包含根据权利要求1至36中任一项所述的肽。

40. 根据权利要求39所述的制剂,所述制剂是即用的防垢制剂。

41. 一种薄膜,所述薄膜包含至少一种根据权利要求1至36中任一项所述的肽。

42. 根据权利要求41所述的薄膜,所述薄膜是防垢和/或抗生物膜。

43. 根据权利要求42所述的薄膜,用于防止由选自细菌、水螅虫、藻类、苔藓虫、原生动物、海鞘类、管虫、亚洲蛤、斑马贻贝和藤壶的有机体引起的生物结垢。

44. 根据权利要求43所述的薄膜,其中所述藻类是硅藻。

45. 根据权利要求43所述的薄膜,其中所述有机体是细菌。

46. 根据权利要求45所述的薄膜,其中所述细菌选自百日咳杆菌 (*Bordetella pertussis*)、伯氏疏螺旋体 (*Borrelia burgdorferi*)、流产布鲁氏菌 (*Brucella abortus*)、犬布鲁氏杆菌 (*Brucella canis*)、羊布鲁氏杆菌 (*Brucella melitensis*)、猪布鲁氏杆菌 (*Brucella suis*)、空肠弯曲杆菌 (*Campylobacter jejuni*)、衣原体肺炎 (*Chlamydia pneumonia*)、鹦鹉热衣原体 (*Chlamydia psittaci*)、沙眼衣原体 (*Chlamydia trachomatis*)、肉毒杆菌 (*Clostridium botulinum*)、艰难梭菌 (*Clostridium difficile*)、产气荚膜梭菌 (*Clostridium perfringens*)、破伤风梭菌 (*Clostridium tetani*)、白喉杆菌 (*Corynebacterium diphtheria*)、粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*)、屎肠球菌 (*Enterococcus faecium*)、大肠杆菌 (*Escherichia coli* (E.coli))、土拉弗朗西斯菌 (*Francisella tularensis*)、流感嗜血杆菌 (*Haemophilus influenza*)、幽门螺杆菌

(*Helicobacter pylori*)、嗜肺军团菌(*Legionella pneumophila*)、肾脏钩端螺旋体(*Leptospira interrogans*)、单核细胞增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)、麻风分枝杆菌(*Mycobacterium leprae*)、结核分支杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)、支原体肺炎(*Mycoplasma pneumonia*)、淋病奈瑟氏菌(*Neisseria gonorrhoeae*)、脑膜炎奈瑟氏菌(*Neisseria meningitidis*)、绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、立氏立克次体(*Rickettsia rickettsii*)、伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhi*)、鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)、宋内志贺菌(*Shigella sonnei*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、腐生葡萄球菌(*Staphylococcus saprophyticus*)、无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*)、变异链球菌(*Streptococcus mutans*)、肺炎链球菌(*Streptococcus pneumonia*)、酿脓链球菌(*Streptococcus pyogenes*)、梅毒螺旋体(*Treponema pallidum*)、霍乱弧菌(*Vibrio cholera*)、哈氏弧菌(*Vibrio harveyi*)和鼠疫杆菌(*Yersinia pestis*)。

47. 根据权利要求46所述的薄膜, 其中所述大肠杆菌选自产肠毒素大肠杆菌(*Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC))和致病性大肠杆菌(*Enteropathogenic E. coli*)。

48. 根据权利要求46所述的薄膜, 其中所述细菌是大肠杆菌(*E. Coli*)。

49. 根据权利要求46所述的薄膜, 其中所述细菌是铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)。

50. 一种物品或装置, 包括包覆有根据权利要求41或42所述的薄膜的至少一个表面区域。

51. 根据权利要求50所述的物品或装置, 选自船舶、船舶的船体、医疗装置、接触镜、食品加工设备、饮用水分配设备、管道、电缆、渔网、桥的支柱和水浸的物品的表面区域。

52. 根据权利要求1至36中任一项所述的肽用于防止或抑制将多细胞有机体的或微生物的细胞的分泌产物吸附至透析单元的表面以防止血细胞的粘附或从来自通过所述单元被治疗的患者的血细胞分泌的蛋白质的粘附的非治疗目的的用途。

53. 一种非治疗目的的用于抑制有机体、具有有机材料和/或生物有机材料的有机体的分泌物在表面上的沉降、附着、累积和分散的方法, 所述方法包括用有效量的包含根据权利要求1至36中任一项所述的肽的制剂接触所述表面。

## 防垢材料

### 发明领域

[0001] 本发明大体涉及防垢剂和其用途。

### [0002] 背景

[0003] 生物结垢是其中有机体和其副产物在表面包上外壳的过程。在细菌的情况下,此过程导致形成定义明确的细菌网络,称为生物膜。生物膜在暴露于抗生素下提供具有优越的存活性质的细菌。在医疗装置和种植体上的生物膜形成导致可以导致患者死亡的严重感染。

[0004] 海洋生物附着至船和其他海洋装置是海洋产业中的主要问题,因为有机体例如藤壶和船舶在装置的表面上形成厚重的生物层。此增加的重量引起运输的延迟和较高的燃料消耗量。此外,船体的定殖一直与两种主要环境污染相关,所述两种主要环境污染是将气体(CO<sub>2</sub>、CO、SO<sub>2</sub>和NO<sub>x</sub>)排放到大气中和将入侵性物种引入到海洋栖息地。

[0005] 在其过程中使用水的其他产业,例如冷却塔和涡轮机,不断地与生物结垢累积和管道堵塞斗争。

[0006] 生物结垢以蛋白质和多糖吸附至基底上开始,因此许多防垢方法以通过防止蛋白质吸附或蛋白质降解避免生物结垢为目的。这些方法包括表面的化学修饰和形貌学修饰二者。

[0007] 防垢材料防止有机体附着至表面。设计这样的材料的挑战是合成防止有机体附着至表面(在真实环境中进行)、并且同时不通过释放有毒分子而对其周围环境具有影响的材料的能力。例如油漆和金属纳米颗粒的防垢材料防止这些有机体附着至基底,但它们对环境是有毒的并且有害的。

[0008] 固定PEG是向表面赋予蛋白质抗性的最通常使用的方法中的一种。基于PEG的涂层的防垢性质已经是广泛已知的。PEG链的物理吸附或共价附接通常由于位阻因素而不能将蛋白质吸附降低到某种极限以下,位阻因素限制附接的聚合物链的密度。此外,PEG具有经历自氧化的高倾向。

[0009] 防垢的物理方法包括使用基底的UV和超声处理。

### [0010] 发明概述

[0011] 高品质防垢材料是可期望的,因为它们提供对表面上的生物结垢过程和形成生物膜的良好解决方案。常规的防垢材料存在若干缺点,因为这些防垢材料中的许多是有毒的(或向环境释放有毒材料)、不稳定的、效率低的或在防止(或完全减少)生物结垢上是有限的,昂贵的和经由复杂的制造工艺生产,所述复杂的制造工艺有时需要用于其制造的昂贵设备。

[0012] 本发明的发明人开发了在表面上自发地自组装并且有效防止、减少或降低表面的结垢的新颖的并且高度改进的防垢材料的家族。自组装,能够形成有序的薄膜或作为活性微粒材料,通过材料的双官能性质变得可能。此直接自组装允许形成双官能材料的有序的薄膜或层,所述双官能材料具有从材料的表面向外延伸的高密度的防垢部分。

[0013] 在本发明的一个方面中,提供了包含至少一个防垢部分(或基团)和至少一个表面



吸附部分(或基团)的化合物,其中至少一个防垢部分选自氟(-F)和包含氟原子的基团,并且所述至少一个表面吸附部分选自3,4-二羟基-L-苯丙氨酸(DOPA)和含有DOPA的基团。

[0014] 在另一方面中,提供了包含至少一个防垢部分(或基团)和至少一个表面吸附部分(或基团)的双官能化合物,

[0015] 其中至少一个防垢部分选自氟(-F)和包含氟原子的基团,并且所述至少一个表面吸附部分选自二羟基-氨基酸和含有二羟基-氨基酸的基团,

[0016] 所述至少一个防垢部分和所述至少一个表面吸附部分经由共价键或经由连接基彼此缔合,如下文所定义。在另一方面中,提供了包含至少一个防垢部分(或基团)和至少一个表面吸附部分(或基团)的双官能化合物,

[0017] 其中至少一个防垢部分选自氟(-F)和包含氟原子的基团,并且所述至少一个表面吸附部分选自3,4-二羟基-L-苯丙氨酸(DOPA)和含有DOPA的基团,

[0018] 所述至少一个防垢部分和所述至少一个表面吸附部分经由共价键或经由连接基彼此缔合,如下文所定义。

[0019] 在另一方面中,提供了包含至少一个防垢部分(或基团)和至少一个表面吸附部分(或基团)的防垢材料,

[0020] 其中至少一个防垢部分选自氟(-F)和包含氟原子的基团,并且所述至少一个表面吸附部分选自3,4-二羟基-L-苯丙氨酸(DOPA)和含有DOPA的基团,

[0021] 所述至少一个防垢部分和所述至少一个表面吸附部分经由共价键或经由连接基彼此缔合,如下文所定义。在另一方面中,提供了通式A-L-F的化合物,其中A是表面吸附部分,L是连接A和F的共价键或连接基部分,并且F是防垢部分,并且其中A、L和F中的每个经由不可水解的键如在上文式中提供的彼此缔合。在某些实施方案中,不可水解的键是共价键。

[0022] 在本发明多个方面中的任一个的某些实施方案中,本发明的化合物是能够防止或抑制有机材料和/或生物有机材料(聚合物)吸附至表面(物品的表面)的防垢剂。

[0023] 在某些实施方案中,本发明的化合物是能够防止或抑制蛋白质和/或多糖和/或聚脂质吸附至表面的防垢剂。

[0024] 在又另外的实施方案中,本发明的化合物是能够防止或抑制多细胞有机体或微生物的细胞的分泌产物吸附至表面的防垢剂。

[0025] 在又另外的实施方案中,本发明的化合物是能够防止或抑制多细胞有机体或微生物的细胞吸附至表面的防垢剂,如下文另外详细描述。

[0026] 作为DOPA或含有DOPA的部分的表面吸附部分被选择为粘附至表面或表面的区域或与表面或表面的区域缔合,所述表面或表面的区域被期望防止结垢。如本文使用的术语“缔合”或“粘附”指的是在DOPA基团或其任何原子、或任何含有DOPA的部分或其任何原子、和表面区域之间形成的任何物理或化学的相互作用。缔合可以是经由范德华、配位、共价、离子、静电、偶极-偶极或氢缔合(键或相互作用)。

[0027] 不取决于表面吸附基团的实际性质,即,无论它是DOPA还是DOPA衍生物,并且无论缔合是否经由单个原子或基团或经由多个原子或原子的基团发生,表面吸附部分(元件)能够粘附至如下文定义的任何表面材料和/或能够维持对如下文定义的任何表面材料的表面粘附。表面粘附可以甚至在非干燥条件下被维持,例如在水环境下,并且还可以在较苛刻条件下被维持,例如高盐浓度。

[0028] 在某些实施方案中,本发明的化合物包含一个或更多个DOPA或含有DOPA的基团。如已知的,DOPA包含两个羟基(-OH)基团。不希望被理论束缚,认为表面吸附经由所述羟基中的一个或两个发生。在某些实施方案中,DOPA基团或包含所述DOPA的部分可以被改性以包含一个或更多个另外的羟基。

[0029] 在某些实施方案中,表面吸附部分是DOPA或包含DOPA的部分。在某些实施方案中,包含DOPA的部分是选自氨基酸和脂肪族材料的有机材料。在某些实施方案中,有机材料是氨基酸。在另一个实施方案中,材料是肽。

[0030] 在某些实施方案中,表面吸附部分是沿着连接基部分L与原子连接、缔合或结合的DOPA,如本文另外定义。

[0031] 在某些实施方案中,化合物包含DOPA单元以及至少一个另外的羟基化的部分。羟基化的部分可以选自单、双、三、四或多羟基化的烷基和芳基以及羟基化的氨基酸。

[0032] 将表面吸附部分和防垢部分缔合的连接基部分L可以具有两个官能部分与其结合或两个官能部分与其缔合的骨架结构。在某些实施方案中,骨架结构进一步被侧基取代,如下文所解释。骨架结构可以包含碳原子并且可以包含一个或更多个杂原子,诸如N、O、S和P原子。

[0033] 在某些情况下,连接基部分可以不是必需的,因为两个官能部分可以彼此缔合或彼此直接结合。因此,在某些实施方案中,连接基部分是不存在的或是缔合两个官能部分的键(该键选自共价键和离子键)。

[0034] 在某些实施方案中,在连接基部分存在的情况下,连接基部分的骨架可以包含一个或更多个碳原子。最短骨架可以是一条碳链。

[0035] 在某些实施方案中,连接基骨架可以选自可以是饱和的(仅具有单键)或不饱和的(包含一个或更多个双键或一个或更多个三键的烃类)被取代的或未被取代的碳链、或包含可以是骨架部分的侧基或作为中断基团(是骨架的一部分)的任何一个或更多个官能团的碳链。

[0036] 在某些实施方案中,骨架包含一个或更多个链内(inner-chain)芳基。

[0037] 在某些实施方案中,连接基部分是选自被取代的或未被取代的低聚物(具有2个和11个之间的重复单元)和聚合物(具有至少12个重复单元)的有机骨架部分。

[0038] 在某些实施方案中,连接基部分是选自氨基酸和肽的有机骨架部分。

[0039] 在某些实施方案中,骨架可以包含在1至40个之间的碳原子或烃基或沿着骨架(在主链中)定位的任何杂原子。在某些实施方案中,骨架包含在1至20个之间的碳原子。在某些实施方案中,骨架包含在1至12个之间的碳原子。在某些实施方案中,骨架包含在1至8个之间的碳原子。在某些实施方案中,骨架包含1个或2个或3个或4个或5个或6个或7个或8个或9个或10个或11个或12个或13个或14个或15个或16个或17个或18个或19个或20个或21个或22个或23个或24个或25个或26个或27个或28个或29个或30个或31个或32个或33个或34个或35个或36个或37个或38个或39个或40个碳原子。

[0040] 在某些实施方案中,连接基部分由可以或不沿着骨架随机构成的预先确定的数目的重复单元构建。连接基部分可以被一个或更多个官能团取代,诸如被取代的或未被取代的烷基、被取代的或未被取代的烯基、被取代的或未被取代的炔基、被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的环烯基、被取代的或未被取代的环炔基、被取代的或未

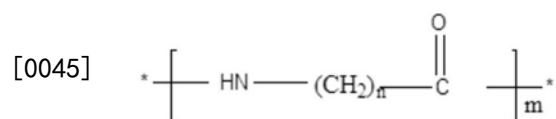
被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基、被取代的或未被取代的杂环基、被取代的或未被取代的-NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>、被取代的或未被取代的-OR<sub>3</sub>、被取代的或未被取代的-SR<sub>4</sub>、被取代的或未被取代的-S(O)R<sub>5</sub>、被取代的或未被取代的亚烷基-COOH和被取代的或未被取代的酯。上文提及的基团中的每个如下文所定义。

[0041] 由“R”表示的可变的基团(包括R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>中的任一个)指的是选自如本文定义的氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基、杂环基、卤素、亚烷基-COOH、酯、-OH、-SH和-NH<sub>2</sub>或其任何组合的一个或更多个基团。

[0042] 如表明的,上文提及的基团中的每个可以是取代的或未被取代的。取代还可以是通过选自氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基、杂环基、卤素、亚烷基-COOH、酯、-OH、-SH和-NH<sub>2</sub>的一个或更多个R。在某些实施方案中,R基团的数目可以是0或1或2或3或4或5或6或7或8或9或20。

[0043] 在某些实施方案中,骨架链包含一个或更多个杂原子(比如,N、O、S和P)。在某些实施方案中,骨架链包含链内酯和/或羰基和/或胺基和/或酰胺基。

[0044] 在某些实施方案中,骨架链具有通用结构



[0046] 其中

[0047] 每个\*表示连接点;

[0048] n是在0和40之间;并且

[0049] m是在1和40之间。

[0050] 在某些实施方案中,n是在1和12之间。在某些实施方案中,n是在1和8之间。在某些实施方案中,n是在1和6之间。

[0051] 在某些实施方案中,m是在1和20之间。在某些实施方案中,m是在1和12之间。在某些实施方案中,m是在1和8之间。在某些实施方案中,m是在1和6之间。

[0052] 在某些实施方案中,(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>基团中的一个或更多个被取代。在某些实施方案中,取代基团是被取代的或未被取代的苯基。在某些实施方案中,取代基团是羟基化的或氟化的苯基。

[0053] 在某些实施方案中,骨架链包含氨基酸基团并且因此在代表性的连接基骨架的以上通式中,重复单元是α-氨基酸或β-氨基酸(分别地,其中n是1或n是2)。

[0054] 在某些实施方案中,连接基部分L是氨基酸或包含2个或3个或4个或5个或6个或7个或8个或9个或10个或11个或12个或13个或14个或15个或16个或17个或18个或19个或20个或21个或22个或23个或24个或25个或26个或27个或28个或29个或30个或31个或32个或33个或34个或35个或36个或37个或38个或39个或40个氨基酸的肽。

[0055] 在某些实施方案中,本发明的化合物由经由酰胺键彼此结合的两个氨基酸(组成连接基L)构成,其中一个氨基酸是DOPA并且另一个是氟化的氨基酸,如本文所描述。在某些实施方案中,化合物由以下两个氨基酸构成:DOPA和氟化的氨基酸,所述两个氨基酸经由如本文描述的连接基部分彼此缔合。在某些实施方案中,连接基部分是一个或更多个氨基酸。

[0056] 在某些实施方案中,骨架包含一个或更多个表面吸附部分和一个或更多个防垢部

分。

[0057] 在某些实施方案中,骨架包含1个或2个或3个或4个或5个或6个或7个或8个或9个或10个或11个或12个或13个或14个或15个或16个或17个或18个或19个或20个表面吸附部分。在某些实施方案中,骨架包含1个或2个或3个或4个或5个或6个或7个或8个或9个或10个或11个或12个或13个或14个或15个或16个或17个或18个或19个或20个防垢部分。

[0058] 在某些实施方案中,防垢部分在骨架的一个末端处与骨架结合并且表面吸附部分在骨架的另一个末端处与骨架结合。在其他实施方案中,防垢部分和表面吸附部分沿着骨架处于交替的位置。在其他实施方案中,防垢部分和表面吸附部分沿着骨架被随机定位。

[0059] 在某些实施方案中,骨架包含一个或更多个氨基酸单元或烃类单元,骨架具有多个表面吸附部分和多个防垢部分,其中两个部分,表面吸附部分或防垢部分,之间的距离不超过12个单元、6个单元、3个单元或1至5个单元。

[0060] 在某些实施方案中,骨架包含两个或更多个氨基酸的肽或由两个或更多个氨基酸的肽组成。在某些实施方案中,本发明的化合物是具有至少两个氨基酸即至少一个DOPA和至少氟化的基团的肽,所述氟化的基团可以是或可以不是氟化的氨基酸。

[0061] 在某些实施方案中,肽包含在2和40个之间的氨基酸。在某些实施方案中,肽包含在2和20个之间的氨基酸。在某些实施方案中,肽包含在2和12个之间的氨基酸。在某些实施方案中,肽包含在2和8个之间的氨基酸。在某些实施方案中,肽包含在2和6个之间的氨基酸,或2和4个之间的氨基酸,或具有2个或3个氨基酸。在某些实施方案中,肽包含2个或3个或4个或5个或6个或7个或8个或9个或10个或11个或12个氨基酸。

[0062] 在某些实施方案中,本发明的化合物是如定义的具有至少一个表面吸附氨基酸和至少一个防垢氨基酸的肽。当肽由两个氨基酸构成时,其中一个氨基酸是防垢氨基酸并且另一个氨基酸是表面吸附氨基酸。当肽中氨基酸的数目大于2,氨基酸的每个类型的数目可以根据目标最终用途而变化。

[0063] 如本领域中已知的,“肽”包含氨基酸,通常在2和40个之间,或在2和20个之间,或在2和12个之间或2和8个之间;每个氨基酸经由肽(酰胺)键与邻近的氨基酸结合。肽骨架可以被改性使得一个氨基酸残基的N-至下一个氨基酸残基的C-之间的键通过还原(至-CH<sub>2</sub>-NH-)、在氮原子上烷基化(例如,甲基化)被改变成非天然存在的键,或被改变成由酰胺键、脲键、磺酰胺键、醚键(-CH<sub>2</sub>-O-)、硫醚键(-CH<sub>2</sub>-S-)或-CS-NH替代的键。肽还可以包含一个或更多个非氨基酸基团。

[0064] “氨基酸”可以是任何天然的或非天然的氨基酸、氨基酸类似物、 $\alpha$ -形式或 $\beta$ -形式,或可以是L-构型或D-构型。可以被用于本发明的化合物的氨基酸类似物可以在氨基酸的C末端和/或N末端中的任一个或两者处被化学地改性;或在侧链官能团(比如,位于 $\alpha$ 位置或任何其他侧基)处被化学地改性。

[0065] 氨基酸可以选自丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸、吡咯赖氨酸和硒代半胱氨酸;以及氨基酸类似物,诸如高氨基酸、N-烷基氨基酸、脱氢氨基酸、芳族氨基酸和 $\alpha, \alpha$ -双取代氨基酸、比如,胱氨酸、5-羟基赖氨酸、4-羟基脯氨酸、 $\alpha$ -氨基己二酸、 $\alpha$ -氨基正丁酸、3,4-二羟基-苯丙氨酸、高丝氨酸、 $\alpha$ -甲基丝氨酸、鸟氨酸、哌啶酸、邻氨基苯甲酸、间氨基苯甲酸或对氨基苯甲酸、瓜氨酸、刀豆氨酸、

正亮氨酸、d-谷氨酸、氨基丁酸、L-苄基丙氨酸、L-3-苯并噻吩基丙氨酸和甲状腺素。

[0066] 在某些实施方案中,氨基酸选自芳族氨基酸。芳族氨基酸的非限制性实例包括色氨酸、酪氨酸、萘基丙氨酸和苯丙氨酸。在某些实施方案中,氨基酸是苯丙氨酸或其衍生物。

[0067] 在某些实施方案中,苯丙氨酸衍生物是4-甲氧基-苯丙氨酸、4-氨基亚胺甲基-1-苯丙氨酸、4-氯-苯丙氨酸、3-氰基-苯丙氨酸、4-溴-苯丙氨酸、4-氰基-苯丙氨酸、4-羟甲基-苯丙氨酸、4-甲基-苯丙氨酸、1-萘基-丙氨酸、3-(9-蒎基)-丙氨酸、3-甲基-苯丙氨酸、间脒基苯基-3-丙氨酸、苯基丝氨酸、苄基半胱氨酸、4,4-联苯基丙氨酸、2-氰基-苯丙氨酸、2,4-二氯-苯丙氨酸、3,4-二氯-苯丙氨酸、2-氯-苯丙氨酸、3,4-二羟基-苯丙氨酸、3,5-二溴酪氨酸、3,3-二苯基丙氨酸、3-乙基-苯丙氨酸、3,4-二氟-苯丙氨酸、3-氯-苯丙氨酸、3-氯-苯丙氨酸、2-氟-苯丙氨酸、3-氟-苯丙氨酸、4-氨基-L-苯丙氨酸、高苯丙氨酸、3-(8-羟基喹啉-3-基)-1-丙氨酸、3-碘-酪氨酸、犬尿氨酸、3,4-二甲基-苯丙氨酸、2-甲基-苯丙氨酸、间酪氨酸、2-萘基-丙氨酸、5-羟基-1-萘、6-羟基-2-萘、间硝基-酪氨酸、(β)-β-羟基-1-酪氨酸、(β)-3-氯-β-羟基-1-酪氨酸、邻酪氨酸、4-苯甲酰基-苯丙氨酸、3-(2-吡啶基)-丙氨酸、3-(3-吡啶基)-丙氨酸、3-(4-吡啶基)-丙氨酸、3-(2-喹啉基)-丙氨酸、3-(3-喹啉基)-丙氨酸、3-(4-喹啉基)-丙氨酸、3-(5-喹啉基)-丙氨酸、3-(6-喹啉基)-丙氨酸、3-(2-喹喔啉基)-丙氨酸、苯乙烯基丙氨酸、五氟-苯丙氨酸、4-氟-苯丙氨酸、苯丙氨酸、4-碘-苯丙氨酸、4-硝基-苯丙氨酸、磷酸酪氨酸、4-叔丁基-苯丙氨酸、2-(三氟甲基)-苯丙氨酸、3-(三氟甲基)-苯丙氨酸、4-(三氟甲基)-苯丙氨酸、3-氨基-L-酪氨酸、3,5-二碘酪氨酸、3-氨基-6-羟基-酪氨酸、酪氨酸、3,5-二氟-苯丙氨酸和/或3-氟酪氨酸。

[0068] 在本发明的某些实施方案中,化合物是具有集合在肽的C末端的一个或更多个表面吸附氨基酸和集合在肽的N末端的一个或更多个防垢氨基酸的肽。在其他实施方案中,表面吸附氨基酸被集合在肽的N末端并且防垢氨基酸被集合在肽的C末端。

[0069] 在某些实施方案中,至少一个表面吸附氨基酸位于肽末端中的一个(C末端或N末端),并且至少一个防垢氨基酸位于肽末端中的另一个。

[0070] 在某些实施方案中,至少一个表面吸附氨基酸位于肽的C末端和肽的N末端之间的中点位置,并且一个或更多个防垢氨基酸各自位于肽末端中的每个。

[0071] 在某些实施方案中,肽可以包含沿着链的任何一个或更多个氨基酸,比如位于末端官能氨基酸之间,沿着肽或在其特定位置随机定位的氨基酸以便影响一个或更多个另外的结构或功能属性。在某些实施方案中,一个或更多个氨基酸可以是或可以不是芳族氨基酸。

[0072] 肽的末端C-或N末端可以被改性以影响或调节(升高或降低或通常改变)肽的一种或更多种性质,比如结构变化、疏水性/亲水性、电荷、溶解度、表面粘附、对有机体的毒性、生物相容性、对一般降解和特别地酶促降解的抗性和其他。肽的C或N末端可以通过在期望的位置形成酯、酰胺、或任何其他官能团而在化学上被改性;使得肽可以在其一个末端(N末端)处具有胺并且在另一个末端处具有羧基(C末端),或可以在末端中的任一个处具有其他基团。

[0073] 防垢部分使本发明的化合物具有本文讨论的防垢和抗生物膜性质。在某些实施方案中,在本发明的化合物中,防垢部分是氟原子。在某些实施方案中,防垢部分是氟化的部分或取代基(包含氟原子的基团)。在某些实施方案中,防垢部分包含C-F基团。

[0074] 在某些实施方案中,防垢部分包含一个或更多个氟原子和/或氟化的部分。在某些实施方案中,防垢部分包含1个或2个或3个或4个或5个或6个或7个或8个或9个或10个氟原子和/或氟化的部分。

[0075] 在某些实施方案中,防垢元件是氟化的有机基团。在某些实施方案中,氟化的有机基团是具有C-F键的F取代的碳基团,其中所述基团中C-F键的数目可以是一个或更多个。在某些实施方案中,防垢部分包含1个或2个或3个或4个或5个氟原子。在某些实施方案中,氟化的碳基团包含-CF、-CF<sub>2</sub>和-CF<sub>3</sub>或由-CF、-CF<sub>2</sub>和-CF<sub>3</sub>组成。

[0076] 在某些实施方案中,氟化的碳基团是被取代的或未被取代的烷基。在某些实施方案中,防垢部分是包含1个或2个或3个或4个或5个或6个氟原子的烷基。在某些实施方案中,防垢部分是在每个碳原子上具有至少一个氟原子的烷基。

[0077] 在其他实施方案中,防垢部分是氟化的被取代的或未被取代的芳基。在某些实施方案中,烷基包含1个或2个或3个或4个或5个氟原子。在某些实施方案中,芳基是全氟化的。

[0078] 在其他实施方案中,芳基是苯基。在其他实施方案中,芳基是杂芳基。

[0079] 在某些实施方案中,防垢部分包含一个或更多个氟化的氨基酸部分或由一个或更多个氟化的氨基酸部分组成。

[0080] 在某些实施方案中,其中氨基酸是如本文定义的氟化的氨基酸是氟化的苯丙氨酸衍生物,其中氟原子取代一个或更多个苯环位置。在苯基环上的取代可以在邻、间和/或对位。氟原子的数目可以是1、2、3、4或5。

[0081] 在某些实施方案中,氟化的苯丙氨酸选自邻氟苯丙氨酸、间氟苯丙氨酸和对氟苯丙氨酸。

[0082] 在某些实施方案中,本发明的化合物是包含在2和12个之间或2和8个之间的氨基酸的肽,每个氨基酸选自芳族氨基酸。在某些实施方案中,肽包含DOPA。在其他实施方案中,肽包含选自邻氟苯丙氨酸、间氟苯丙氨酸和对氟苯丙氨酸的氟化的芳族氨基酸。

[0083] 在某些实施方案中,本发明的化合物是包含在一个末端处的DOPA和在另一个末端处的选自邻氟苯丙氨酸、间氟苯丙氨酸和对氟苯丙氨酸的氟化的芳族氨基酸的肽。

[0084] 在某些实施方案中,本发明的化合物是包含沿着所述肽在中点氨基酸处的DOPA和在所述肽的末端的每个处的选自邻氟苯丙氨酸、间氟苯丙氨酸和对氟苯丙氨酸的氟化的芳族氨基酸的肽。

[0085] 在某些实施方案中,本发明的化合物的防垢部分构成任选地彼此结合的两个防垢氨基酸残基。在某些实施方案中,防垢部分构成任选地彼此结合的两个氟化的氨基酸残基。在某些实施方案中,防垢部分构成至少两个氟化的氨基酸残基,每个任选地与另一个结合。

[0086] 如本文陈述的,本发明的化合物通常是双官能化合物,所述双官能化合物在某些实施方案中被用作用于实现尤其以下中的一种或更多种的防垢剂:

[0087] -防止或抑制或最小化或减少有机材料和/或生物有机材料(聚合物)吸附至表面(物品的表面);

[0088] -防止或抑制或最小化或减少蛋白质和/或多糖和/或聚脂质吸附至表面;

[0089] -防止或抑制或最小化或减少从多有机体或微生物的细胞分泌至表面上;以及

[0090] -防止或抑制或最小化或减少多有机体或微生物的细胞吸附至表面。

[0091] 本发明的组合物能够赋予与化合物缔合的表面以上属性,因为化合物能够与所述

表面区域紧密地缔合,并且同时能够形成包覆表面区域或在表面区域上覆以薄膜的暴露的防垢部分的稠密层,从而在其上形成保护性涂层、层或薄膜。本发明的化合物,特别地本发明的肽包含要素,特别地芳族基团或芳族氨基酸,所述要素能够将化合物自组装成具有特定方向性的有序的结构。不希望被理论束缚,自组装的肽的理想构型产生如图1中示例性描绘的薄膜。

[0092] 因此,本发明的化合物可以具有如以下方案1中示出的任何结构。

[0093] 方案1中示出的化合物的6个示例性结构,通用结构A-L-F被示出,其中A是表面吸附部分,L是连接A和F的共价键或连接基部分,并且F是防垢部分,并且其中A、L和F中的每个经由不可水解的键彼此(如以上结构中提供的)缔合。A、L和F中的每个如上文所定义。

[0094] 如结构I中所描绘,连接基L可以是在一个末端处具有表面吸附部分A并且在另一个末端处具有防垢部分F的直链或实质上直链的结构,其中L可以任选地被取代。L可以是长的或短的连接基部分。L可以不存在。当L存在时,L包含至少一个碳原子。

[0095] 在结构II中,连接基L缔合单个表面吸附部分A和两个防垢部分F。在某些实施方案中,可以有多于两个防垢部分,两个防垢部分中的每个从表面向外延伸。虽然在结构II中连接基被分叉以提供两个连接点(每个防垢部分一个连接点),但多个防垢部分的连接可以交替地沿着连接基的骨架链。换句话说,两个防垢部分不一定具有共同的结合的原子或基团。

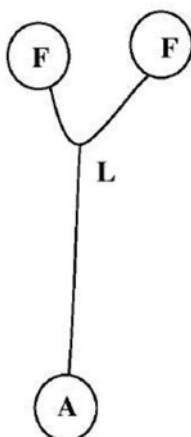
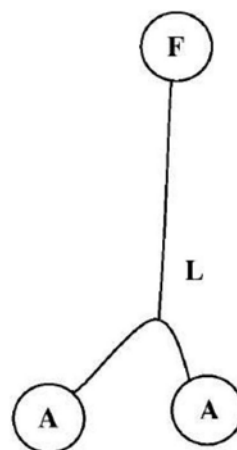
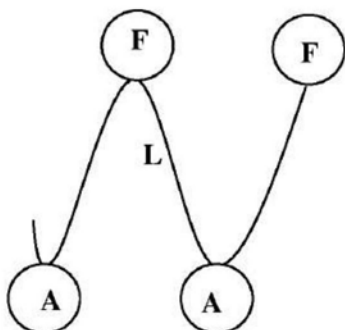
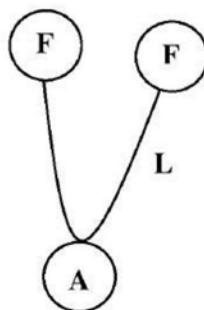
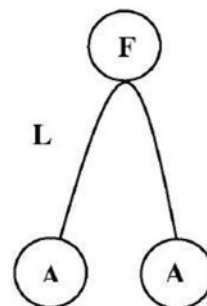
[0096] 在结构III中,连接基L缔合两个表面吸附部分A和防垢部分F。在某些实施方案中,可以有多于一个防垢部分。虽然在结构III中连接基被分叉以提供两个连接点(每个表面吸附部分一个连接点),但多个表面结合部分的连接可以交替地沿着连接基的骨架链。换句话说,两个表面结合部分不一定具有共同的结合的原子或基团。

[0097] 在结构V中,表面吸附部分A实质上位于具有从其延伸的两个连接基臂的连接基L的骨架上的中间位置,防垢部分在其末端被提供。同样地,在结构VI中,提供两个表面吸附部分以连接单个防垢部分。

[0098] 本发明的化合物还可以被构建成具有带有沿着骨架定位的多个表面结合部分和防垢部分的较长的连接基骨架以提供表面区域的更致密的覆盖物。本发明的化合物的一个这样的示例性实施方案被描绘在方案1的结构IV中。

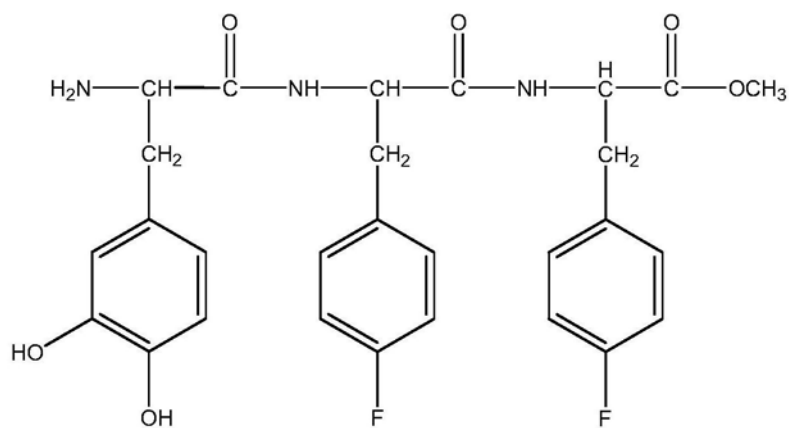
[0099] 在某些实施方案中,方案1的结构中描绘的化合物各自是具有一个或更多个防垢部分(F)和表面吸附部分(A)的脂肪族化合物(L是脂肪族骨架)。

[0100] 在某些实施方案中,连接基骨架是肽。

[0101] 结构 I结构 II结构 III结构 IV结构 V结构 VI[0102] 方案1

[0103] 根据本发明的化合物的示例性、非限制性实例是本文指定的肽，肽1-18。

[0104] 在本发明指定的肽1-4的非限制性化合物中，组I的肽是示例性的。



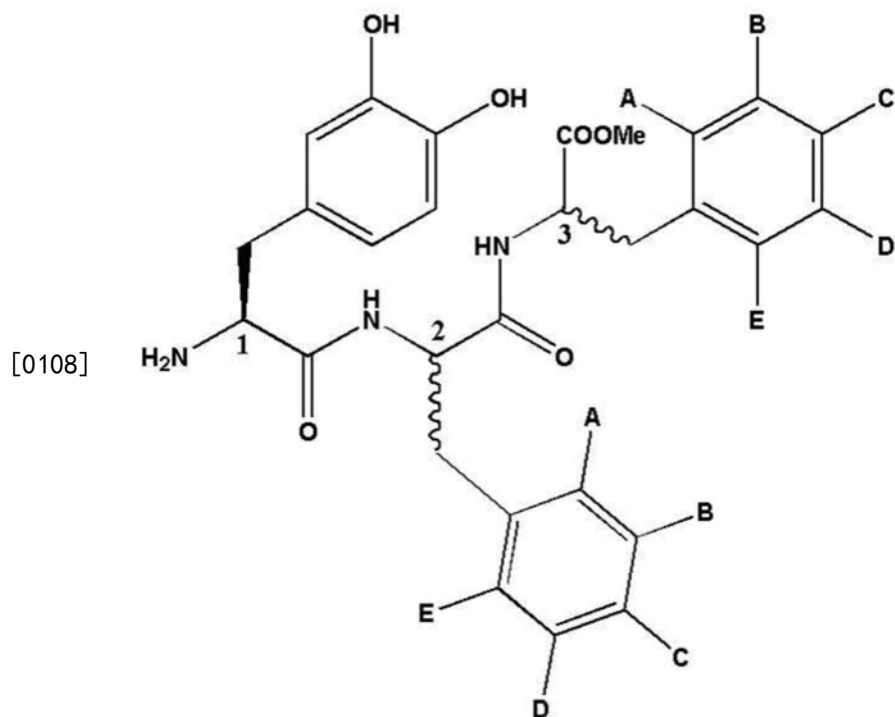
[0105]

肽组 I

[0106] 全氟化的衍生物被指定为肽5。

[0107] 二肽衍生物被指定为肽6。





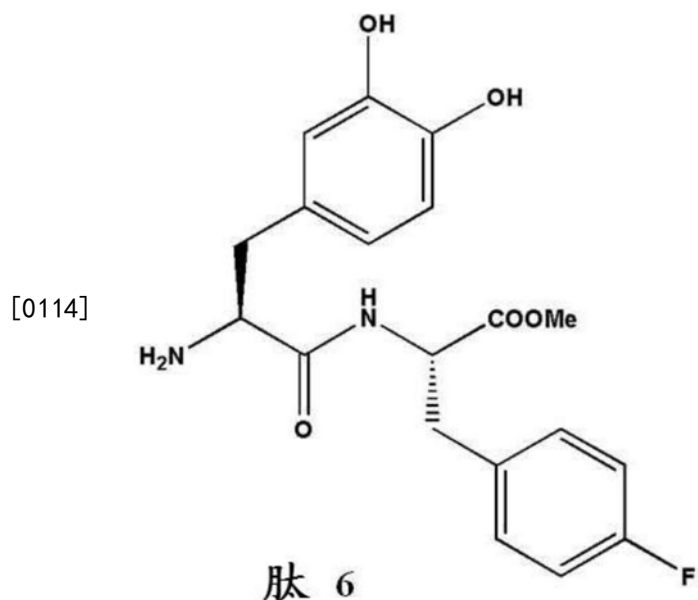
[0109] 肽1: (1S,2S,3S) A=B=D=E=-H, C=-F

[0110] 肽2: (1S,2S,3R) A=B=D=E=-H, C=-F

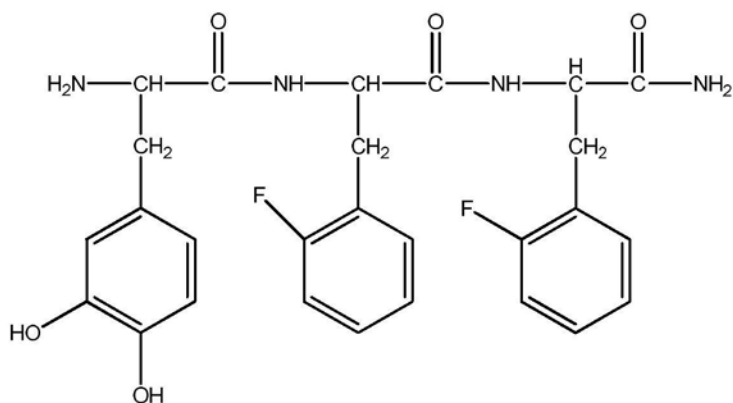
[0111] 肽3: (1S,2R,3S) A=B=D=E=-H, C=-F

[0112] 肽4: (1S,2R,3R) A=B=D=E=-H, C=-F

[0113] 肽5: (1S,2S,3S) A=B=C=D=E=-F

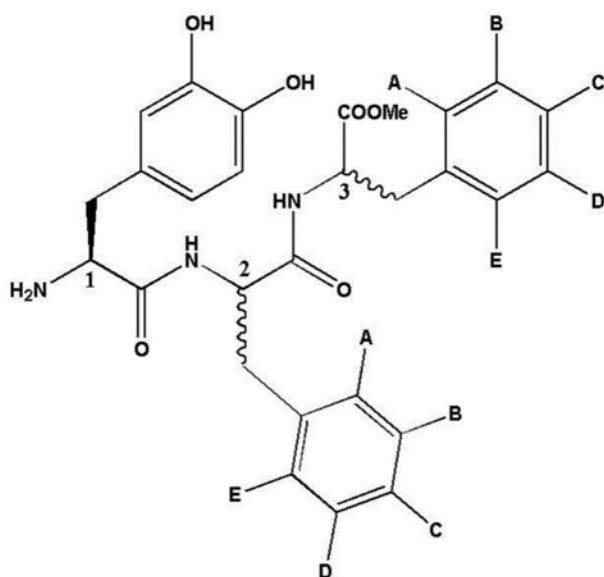


[0115] 在本发明指定的肽7-10的非限制性化合物中,组II的肽是示例性的。



## 肽组 II

[0116]



[0117] 肽7: (1S, 2S, 3S) A=B=C=D=-H, E=-F

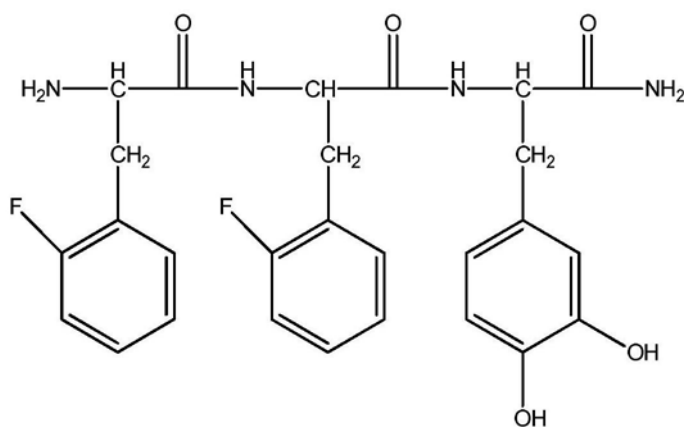
[0118] 肽8: (1S, 2S, 3R) A=B=C=D=-H, E=-F

[0119] 肽9: (1S, 2R, 3S) A=B=C=D=-H, E=-F

[0120] 肽10: (1S, 2R, 3R) A=B=C=D=-H, E=-F

[0121] 本发明同样包含组III的肽。示例性化合物被指定为肽11-14:

[0122]



### 肽组 III

[0123] 肽11: (1S,2S,3S)

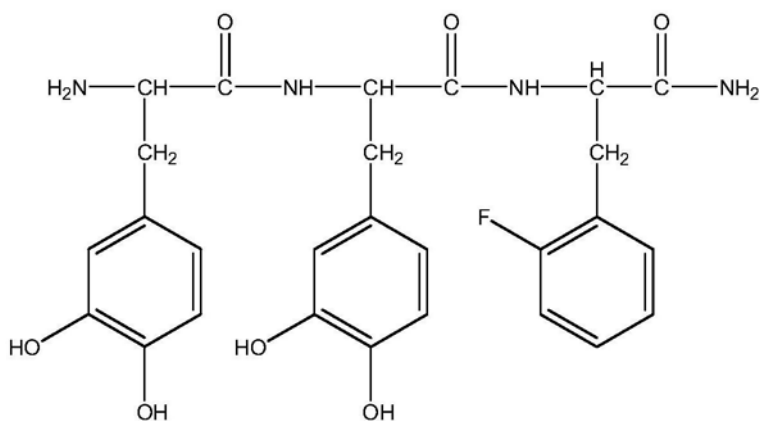
[0124] 肽12: (1S,2S,3R)

[0125] 肽13: (1S,2R,3S)

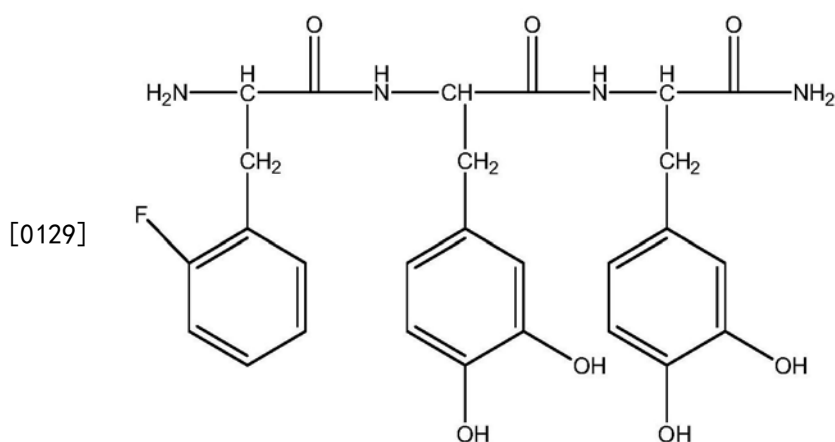
[0126] 肽14: (1S,2R,3R)

[0127] 类似于上文描绘的肽1至14,本发明的其他肽可以包含以相比于防垢氨基酸的数目更大数目(量)的表面结合氨基酸,比如氟化的芳族氨基酸;具有该结构的这样的化合物在下文描绘用于组肽IV和V:

[0128]



## 组肽 IV



## 组肽 V

[0130] 根据本发明的另外的非限制性肽包括：

[0131]  $\text{NH}_2\text{-L-DOPA-L-(4-F)-Phe-COOH}$  肽15

[0132]  $\text{NH}_2\text{-L-DOPA-D-(4-F)-Phe-COOH}$  肽16

[0133]  $\text{NH}_2\text{-L-DOPA-L-(4-F)-Phe-L-(4-F)-Phe-COOMe}$  肽17。

[0134] 如上文所使用，名称“(4-F)-”指的是对氟衍生物。

[0135] 如上文所使用，本发明的化合物可以在其原子的任一个上具有一个或更多个取代基。在如定义的化合物中：

[0136] -“烷基”、“烯基”和“炔基”碳链，如果不是特定的，指的是各自含有从1至20个碳或1或2至16个碳的碳链，并且是直链的或支链的。每个这样的基团可以被取代。在某些实施方案中，碳链包含1至10个碳原子。在某些实施方案中，碳链包含1至6个碳原子。在某些实施方案中，碳链包含2至6个碳原子。烯基碳链可以包含从2至20个碳、或2至18个碳、或2至16个碳、或2至14个碳、或2至12个碳、或2至10个碳、或2至8个碳、或2至6个碳、或2至4个碳。烯基碳链可以同样地包含1至8个双键、或1至7个双键、或1至6个双键、或1至5个双键、或1至4个双键、或1至3个双键、或1个双键、或2个双键。炔基碳链包含从2至20个碳、或2至18个碳、或2至16个碳、或2至14个碳、或2至12个碳、或2至10个碳、或2至8个碳、或2至6个碳、或2至4个碳。炔基碳链可以同样地包含1至8个三键、或1至7个三键、或1至6个三键、或1至5个三键、或1至4个三键、或1至3个三键、或1个三键、或2个三键。示例性烷基、烯基和炔基包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、异丁基、正丁基、仲丁基、叔丁基、异己基、烯丙基（丙烯基）和炔丙基（丙炔基）。

[0137] -“环烷基”指的是饱和的单或多环环体系，在某些实施方案中具有3至10个碳原子，在其他实施方案中具有3至6个碳原子；环烯基和环炔基指的是各自包含至少一个双键和至少一个三键的单环或多环环体系。环烯基和环炔基可以在某些实施方案中，包含在3至10个之间的碳原子，在另外的实施方案中，包含在4至7个之间的碳原子，并且环炔基，在另外的实施方案中，包含8至10个碳原子。环烷基、环烯基和环炔基的环体系可以包含可以以稠合的、桥接的或螺连接的方式被连接在一起的一个环或两个或更多个环。

[0138] -“芳基”指的是含有6至10个碳原子的芳族的单环或多环基团。芳族基团包括但不

限于,诸如未被取代的或被取代的苄基、未被取代的或被取代的苯基和未被取代的或被取代的萘基的基团。

[0139] -“杂芳基”指的是在某些实施方案中,约5至约15元的单环或多环芳族环体系,其中环体系中的原子的一个或更多个、在某些实施方案中1至3个,是杂原子,即除了碳之外的元素,包括比如氮、氧或硫。杂芳基可以任选地被稠合至苯环。杂芳基包括但不限于呋喃基、咪唑基、嘧啶基、四唑基、噻吩基、吡啶基、吡咯基、噻唑基、异噻唑基、噁唑基、异噁唑基、三唑基、喹啉基和异喹啉基。

[0140] -“杂环基”指的是在某些实施方案中3至10元,在另一实施方案中4至7元,在另外的实施方案中5至6元的饱和的单环或多环环体系,其中环体系中原子的一个或更多个、在某些实施方案中1至3个,是杂原子,即除了碳之外的元素,包括但不限于氮、氧或硫。在其中杂原子是氮的实施方案中,氮任选地被烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、芳烷基、杂芳烷基、环烷基、杂环基、环烷基烷基、杂环基烷基、酰基、胍取代,或氮可以被季胺化以形成其中取代基被选为以上取代基的铵基。

[0141] -“ $-NR_1R_2$ ”指的是胺基,其中 $R_1$ 和 $R_2$ 独立地选自氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基、杂环基、酯和羰基,每个如本文定义的或在本领域中可选择地已知的。

[0142] -“ $-OR_3$ ”指的是羟基或烷氧基或衍生物,其中 $R_3$ 选自氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基、杂环基、卤素、亚磺酰基、酯和羰基。

[0143] -“ $-SR_4$ ”指的是巯基或硫醚基或衍生物,其中 $R_4$ 选自氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基、杂环基、卤素、亚磺酰基、酯和羰基。

[0144] -“ $-S(O)R_5$ ”指的是亚磺酰基,其中 $R_5$ 选自氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基、杂环基、卤素、亚磺酰基、酯和羰基。

[0145] -“酯”指的是 $-C(O)OR_8$ ,其中 $R_8$ 选自氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基、杂环基、卤素、 $-NR_1R_2$ 、亚磺酰基、羰基、 $-OR_3$ 、 $SR_4$ 、 $-S(O)R_5-OH$ 、 $-SH$ 和 $-NH$ 。

[0146] 术语“被取代的”指的是如以上本文定义的具有(进一步取代的)一个或更多个取代基的任何基团或任何配体,其中取代基是如以上本文定义的配体。在某些实施方案中,取代基选自烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基、杂环基、卤素、亚烷基- $COOH$ 、酯、 $-OH$ 、 $-SH$ 和 $-NH$ 。在某些实施方案中,在某个配体上取代基的数目可以是0或1或2或3或4或5或6或7或8或9或20个取代基。

[0147] 本发明的化合物(比如,肽)根据本领域中已知的方法来制造。在某些实施方案中,化合物使用固相或溶液相合成来合成。

[0148] 本发明的防垢化合物可以被配制成即用产品或浓缩物。即用产品可以呈粉末、油制剂(或分散体)、乳剂或气溶胶制剂的形式。包含本发明的一种或更多种化合物、特别地本发明的肽的制剂可以包含另外的组分,诸如固定剂、共溶剂、增塑剂、染料、着色颜料、腐蚀抑制剂、化学稳定剂或任何其他添加剂。

[0149] 制剂和/或化合物可以通过本领域中已知的任何方法被应用,包括涂刷、喷雾、辊涂、浸渍、旋涂、分配、印刷、喷墨印刷、冲压、滴涂和其任何组合。

[0150] 在另一个方面中,本发明提供包含根据本发明的化合物的薄膜。

[0151] 在某些实施方案中,薄膜通过化合物自组装在表面上来获得,如本文讨论的。

[0152] 在某些实施方案中,薄膜包含根据本发明的肽。

[0153] 在某些实施方案中,薄膜是防垢和/或抗生物膜。

[0154] 薄膜可以是连续的薄膜或包含分开的区域或域。薄膜中不同防垢化合物的数目可以尤其通过可以放在期望的区域上的材料的数目的物理限制、化合物的化学的或物理的性质以及其他来确定。

[0155] 在另一方面中,本发明还提供至少一种根据本发明的化合物用于形成根据本发明的薄膜的用途。

[0156] 本发明还提供表面或物品(或装置),其中其至少一个区域包覆有根据本发明的防垢薄膜。

[0157] 物品和装置可以是任何物品,其中防垢性质是期望的。通常地,物品是经历湿度或水环境的物品。物品或装置可以是船舶和/或船舶的船体和/或医疗装置和/或接触镜和/或食品加工设备和/或饮用水分配设备和/或管道和/或电缆和/或渔网和/或桥的支柱和/或水浸的物品的表面区域和/或其他任何表面区域。

[0158] 本发明的化合物的吸附性质被特定地改进并且因此其薄膜可以在任何表面材料上形成。基底可以是柔性的或刚性的基底,基底可以是实质上二维的(薄平物品)或三维的。物品的表面可以具有任何平滑度。

[0159] 表面可以以非限制性方式选自户外木工制品、中心加热或冷却系统的外表面、浴室壁、船舶的船体或任何离岸设施、食品生产/包装的表面、任何工业设施的表面、任何医疗设施的表面、任何水设施的表面和其他。(物品的)表面材料可以是选自木材、玻璃、云母、塑料、陶瓷、水泥、金属、半导体、硅表面(比如,硅片,具有100nm钛层的硅片)、碳、混合材料(比如,400目Copper-formvar®/碳网)、不锈钢、金属氧化物、氧化铝和其他的任何材料。

[0160] 由本发明的化合物赋予的防垢性质通过多种表面上观察到的防止有机体或有机体的分泌物的累积得到最好理解。参与潮湿的、盐水的或淡水的环境中表面的结垢的有机体包括,例如细菌、硅藻、水螅虫、藻类、苔藓虫、原生动物、海鞘类、管虫、亚洲蛤、斑马贻贝和藤壶。因此,本发明的化合物能够防止微生物结垢和大量结垢,比如防止细菌和病毒粘附以及较大有机体或从多细胞有机体的主体脱落的细胞的附着。

[0161] 在某些实施方案中,本发明的化合物是能够防止或抑制多细胞有机体或微生物的细胞的分泌产物吸附至表面透析单元以防止血细胞的粘附或从来自通过所述单元被治疗的患者的血细胞分泌的蛋白质的粘附。

[0162] 在某些实施方案中,有机体是细菌。在某些实施方案中,细菌在某些实施方案中选自百日咳杆菌(*Bordetella pertussis*)、伯氏疏螺旋体(*Borrelia burgdorferi*)、流产布鲁氏菌(*Brucella abortus*)、犬布鲁氏杆菌(*Brucella canis*)、羊布鲁氏杆菌(*Brucella melitensis*)、猪布鲁氏杆菌(*Brucella suis*)、空肠弯曲杆菌(*Campylobacter jejuni*)、衣原体肺炎(*Chlamydia pneumonia*)、鹦鹉热衣原体(*Chlamydia psittaci*)、沙眼衣原体(*Chlamydia trachomatis*)、肉毒杆菌(*Clostridium botulinum*)、艰难梭菌(*Clostridium difficile*)、产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)、破伤风梭菌(*Clostridium tetani*)、白喉杆菌(*Corynebacterium diphtheria*)、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)、屎肠球菌(*Enterococcus faecium*)、大肠杆菌(*Escherichia coli* (E.coli))、产肠毒素大肠杆菌(*Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC))、致病性大肠杆菌

(Enteropathogenic *E.coli*)、土拉弗朗西斯菌 (*Francisella tularensis*)、流感嗜血杆菌 (*Haemophilus influenza*)、幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*)、嗜肺军团菌 (*Legionella pneumophila*)、肾脏钩端螺旋体 (*Leptospira interrogans*)、单核细胞增生李斯特氏菌 (*Listeria monocytogenes*)、麻风分枝杆菌 (*Mycobacterium leprae*)、结核分支杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)、支原体肺炎 (*Mycoplasma pneumonia*)、淋病奈瑟氏菌 (*Neisseria gonorrhoeae*)、脑膜炎奈瑟氏菌 (*Neisseria meningitidis*)、绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、立氏立克次体 (*Rickettsia rickettsii*)、伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhi*)、鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*)、宋内志贺菌 (*Shigella sonnei*)、表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*)、腐生葡萄球菌 (*Staphylococcus saprophyticus*)、无乳链球菌 (*Streptococcus agalactiae*)、变异链球菌 (*Streptococcus mutans*)、肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumonia*)、酿脓链球菌 (*Streptococcus pyogenes*)、梅毒螺旋体 (*Treponema pallidum*)、霍乱弧菌 (*Vibrio cholera*)、哈氏弧菌 (*Vibrio harveyi*) 和鼠疫杆菌 (*Yersinia pestis*)。

[0163] 在本发明的某些实施方案中,细菌是大肠杆菌 (*E.Coli*)。在本发明的某些实施方案中,细菌是铜绿假单胞菌 (*P.aeruginosa*)。

[0164] 如本文所使用,术语“防止”指的是抑制、限制或总体控制有机体和/或有机体的分泌物和/或有机材料和/或生物有机材料(比如,蛋白质和/或多糖和/或聚脂质)沉降、附着、累积和分散在表面上,防止生物膜形成并且影响生物膜的完整性(比如,将其降解)和进一步生长。如本领域中技术人员将认识到的,本发明的化合物和/或薄膜具有通过污垢释放,通过最小化、减少或抑制结垢粘附而防止和控制表面的结垢的能力。因此,本发明的化合物和/或薄膜可以同样地被认为是抗微生物、抗病毒、抗真菌和抑制细胞生长的材料。

[0165] 在本发明的另一方面中,提供了用于抑制有机体和/或有机体的分泌物和/或有机材料和/或生物有机材料(比如,蛋白质和/或多糖和/或聚脂质)沉降、附着、累积和分散在表面上的方法,该方法包括用有效量的包含根据本发明的化合物(比如,肽)的制剂接触所述表面。

[0166] 本发明提供用于抑制有机体和/或有机体的分泌物和/或有机材料和/或生物有机材料(比如,蛋白质和/或多糖和/或聚脂质)沉降、附着、累积和分散在表面上的另外的方法,该方法包括在所述表面上形成根据本发明的化合物的薄膜或涂层或层。

[0167] 本发明还提供包含根据本发明的化合物和用于将所述化合物溶解或配制成可递送的形式的至少一种溶剂以及使用的说明书的试剂盒。

[0168] 附图简述

[0169] 为了更好地理解本文公开的主题和为了例证主题可以如何在实践中实施,现在将参考附图通过仅非限制性实例的方式描述实施方案,在附图中:

[0170] 图1描绘了根据本发明的薄膜的构造,该薄膜包含根据本发明的化合物或肽,其中吸附元件是在薄膜的一侧并且抵抗结垢的元件(防垢元件)是在薄膜的另一侧。

[0171] 图2示出了用于通过浸涂在基底上形成涂层的一般方案。示例性肽被描绘为分子结构。

[0172] 图3示出了在甲醇(a)、乙醇(b)、异丙醇(c)、丙酮(d)、二甲基亚砜(DMSO)(e)和1,1,1,3,3,3-六氟-2-丙醇(HFP)(f)中包覆在Ti表面上的肽1的接触角测量。使用的浓度是

0.5mg/mL, 温育时间10h。

[0173] 图4提供了溶解在丙酮(较低的线)、乙醇(中间线)和异丙醇(顶部线)中的肽1的ATR-FTIR光谱。

[0174] 图5示出了裸露的表面和包覆有肽1、(a,b) 钛、(c,d) 金、(e,f) 硅和(g,h) 不锈钢的表面的接触角测量。肽浓度是0.5mg/mL, 溶解在甲醇中, 温育时间10h。

[0175] 图6示出了包覆有不同肽(a) 肽2、(b) 肽3、(c) 肽4、(d) 肽5和(e) 肽6的钛表面的接触角测量。肽浓度是0.5mg/mL, 溶解在甲醇中, 温育时间10h。

[0176] 图7示出了如由肽的浓度影响的疏水性增强:(a) 裸露的Ti表面, (b) 以0.5mg/mL肽1包覆的Ti表面, (c) 以1.0mg/mL肽1包覆的Ti表面的接触角。温育时间10h, 溶剂甲醇。

[0177] 图8呈现裸露的云母和用(b) 肽1、(c) 肽2、(d) 肽3、(e) 肽4、(f) 肽5和(g) 肽6改性的云母基底的AFM形貌学图像。比例尺表示500nm。

[0178] 图9呈现(a) 裸露的Ti表面和(b) 肽1包覆的Ti表面的原子力显微镜(AFM)图像。

[0179] 图10呈现(a) 裸露的Ti表面和(b) 包覆有肽1的Ti表面的ATR-FTIR光谱。

[0180] 图11呈现包覆有肽2(a)、3(b)、4(c)和5(d)的钛基底的ATR-FTIR光谱。

[0181] 图12呈现包覆有肽6的钛基底的ATR-FTIR光谱。

[0182] 图13呈现肽1的实时QCM-D测量。频率(F)和耗散(D)在肽1吸附至Ti传感器后变化。箭头标记肽添加(a)和洗涤(b)。

[0183] 图14呈现实时QCM-D测量。频率(蓝色)和耗散(橙色)在肽(a) 2、(b) 3、(c) 4、(d) 5和(e) 6吸附后变化。

[0184] 图15呈现裸露的Ti基底和包覆有肽1-4的基底的XPS分析。

[0185] 图16提供了裸露的Ti基底和包覆有肽5-6的基底的XPS分析。

[0186] 图17示出了Ti基底和肽包覆的Ti基底上BSA和溶菌酶的吸附的量(因为信号非常低,所以仅SD可以被示出)。标准偏差基于三个不同实验。

[0187] 图18呈现对照Ti(a)和肽包覆的Ti(b)上结晶紫染色的铜绿假单胞菌生物膜的显微照片。(c-d)示出由于肽涂层的生物膜形成减少。

[0188] 图19示出了图像:左边是自组装在TEM铜网上的薄膜的TEM图像。右边是硅基底上形成的薄膜的SEM图像。

## 具体实施方式

[0189] 生物结垢是其中有机体和其副产物在表面包上外壳的过程。它是目前健康护理系统中主要关注点之一,因为致病菌吸附至医疗装置引起医院获得性感染。此外,它是海洋产业中的主要问题,因为船体上海洋有机体的吸附导致燃料消耗量的增加和运输的延迟。防止生物结垢的许多方法已经被建议,但是它们具有缺点,诸如向周围释放有毒材料,限制其长期应用的低稳定性或复杂和高成本的合成。

[0190] 本文公开的本发明基于通过自组装诸如肽的化合物来自发形成的防垢涂层的发明人开发。呈现的结果清楚地示出涂层完全地防止生物结垢的第一阶段并且消除蛋白质吸附至基底。此外,涂层明显降低基底上细菌的量。

[0191] 本发明提供包含至少两个氨基酸的肽,所述氨基酸中的至少一个是3,4-二羟基-L-苯丙氨酸(DOPA)并且所述氨基酸中的至少另一个是氟化的。



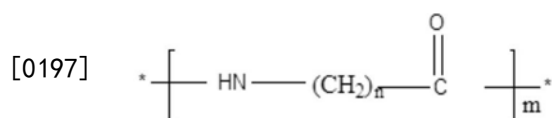
[0192] 在某些实施方案中,所述肽是防垢的。

[0193] 在某些实施方案中,所述氟化的氨基酸与所述至少一个DOPA结合。

[0194] 在某些实施方案中,肽包含在3和8个之间的氨基酸。在某些实施方案中,肽包含在2和8个之间的氨基酸,3和6个之间的氨基酸,或3和5个之间的氨基酸。

[0195] 在某些实施方案中,每个氨基酸经由肽键与所述另一个氨基酸结合。在某些实施方案中,所述氨基酸中的至少两个经由共价连接基彼此结合。在某些实施方案中,本发明的肽具有通式A-L-F,其中A是DOPA,L是连接A和F的共价键或连接基部分,并且F是氟化的氨基酸部分。

[0196] 在某些实施方案中,将A缔合至L或将L缔合至F的所述键或连接基是不可水解的键或连接基。在某些实施方案中,连接基选自被取代的或未被取代的碳链。在某些实施方案中,连接基包含两个或更多个氨基酸。在某些实施方案中,连接基包含在1至40个之间的碳原子。在某些实施方案中,连接基具有以下通用结构



[0198] 其中

[0199] 每个\*表示连接点;

[0200] n是在0和40之间;并且

[0201] m是在1和40之间。

[0202] 在某些实施方案中,两个或更多个部分是DOPA部分。在某些实施方案中,肽包含两个或更多个氟化的氨基酸。在某些实施方案中,肽包含两个或更多个DOPA和两个或更多个氟化的氨基酸部分。

[0203] 在某些实施方案中,肽包含一个或更多个DOPA和两个或更多个氟化的氨基酸部分。在某些实施方案中,肽包含两个或更多个DOPA和一个或更多个氟化的氨基酸部分。在某些实施方案中,被氟化的所述氨基酸选自天然的或非天然的氨基酸、氨基酸类似物、 $\alpha$ -形式或 $\beta$ -形式、和L-氨基酸或D-氨基酸。在某些实施方案中,氨基酸选自丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸、吡咯赖氨酸和硒代半胱氨酸;以及氨基酸类似物,诸如高氨基酸、N-烷基氨基酸、脱氢氨基酸、芳族氨基酸和 $\alpha,\alpha$ -双取代氨基酸、胱氨酸、5-羟基赖氨酸、4-羟基脯氨酸、 $\alpha$ -氨基己二酸、 $\alpha$ -氨基正丁酸、3,4-二羟基-苯丙氨酸、高丝氨酸、 $\alpha$ -甲基丝氨酸、鸟氨酸、哌啶酸、邻氨基苯甲酸、间氨基苯甲酸或对氨基苯甲酸、瓜氨酸、刀豆氨酸、正亮氨酸、d-谷氨酸、氨基丁酸、L-苄基丙氨酸、L-3-苯并噻吩基丙氨酸和甲状腺素。

[0204] 在某些实施方案中,氨基酸选自芳族氨基酸。在某些实施方案中,芳族氨基酸选自色氨酸、酪氨酸、萘基丙氨酸和苯丙氨酸。在某些实施方案中,氨基酸选自苯丙氨酸和/或其衍生物。

[0205] 在某些实施方案中,苯丙氨酸衍生物选自4-甲氧基-苯丙氨酸、4-氨基亚胺甲基-1-苯丙氨酸、4-氯-苯丙氨酸、3-氰基-苯丙氨酸、4-溴-苯丙氨酸、4-氰基-苯丙氨酸、4-羟甲基-苯丙氨酸、4-甲基-苯丙氨酸、1-萘基-丙氨酸、3-(9-蒎基)-丙氨酸、3-甲基-苯丙氨酸、

间脒基苯基-3-丙氨酸、苯基丝氨酸、苄基半胱氨酸、4,4-联苯基丙氨酸、2-氰基-苯丙氨酸、2,4-二氯-苯丙氨酸、3,4-二氯-苯丙氨酸、2-氯-苯丙氨酸、3,4-二羟基-苯丙氨酸、3,5-二溴酪氨酸、3,3-二苯基丙氨酸、3-乙基-苯丙氨酸、3,4-二氟-苯丙氨酸、3-氯-苯丙氨酸、3-氯-苯丙氨酸、2-氟-苯丙氨酸、3-氟-苯丙氨酸、4-氨基-L-苯丙氨酸、高苯丙氨酸、3-(8-羟基喹啉-3-基)-1-丙氨酸、3-碘-酪氨酸、犬尿氨酸、3,4-二甲基-苯丙氨酸、2-甲基-苯丙氨酸、间酪氨酸、2-萘基-丙氨酸、5-羟基-1-萘、6-羟基-2-萘、间硝基-酪氨酸、 $(\beta)$ - $\beta$ -羟基-1-酪氨酸、 $(\beta)$ -3-氯- $\beta$ -羟基-1-酪氨酸、邻酪氨酸、4-苯甲酰基-苯丙氨酸、3-(2-吡啶基)-丙氨酸、3-(3-吡啶基)-丙氨酸、3-(4-吡啶基)-丙氨酸、3-(2-喹啉基)-丙氨酸、3-(3-喹啉基)-丙氨酸、3-(4-喹啉基)-丙氨酸、3-(5-喹啉基)-丙氨酸、3-(6-喹啉基)-丙氨酸、3-(2-喹喔啉基)-丙氨酸、苯乙烯基丙氨酸、五氟-苯丙氨酸、4-氟-苯丙氨酸、苯丙氨酸、4-碘-苯丙氨酸、4-硝基-苯丙氨酸、磷酸酪氨酸、4-叔丁基-苯丙氨酸、2-(三氟甲基)-苯丙氨酸、3-(三氟甲基)-苯丙氨酸、4-(三氟甲基)-苯丙氨酸、3-氨基-L-酪氨酸、3,5-二碘酪氨酸、3-氨基-6-羟基-酪氨酸、酪氨酸、3,5-二氟-苯丙氨酸和3-氟酪氨酸。

[0206] 在某些实施方案中,所述氟化的氨基酸选自邻氟苯丙氨酸、间氟苯丙氨酸和对氟苯丙氨酸。

[0207] 在某些实施方案中,肽包含在2和12个之间的氨基酸,每个氨基酸选自芳族氨基酸。在某些实施方案中,肽包含在一个末端处的DOPA和在另一个末端处的选自邻氟苯丙氨酸、间氟苯丙氨酸和对氟苯丙氨酸的氟化的芳族氨基酸。在某些实施方案中,肽包含沿着所述肽在中点氨基酸处的DOPA和在所述肽的末端的每个处的选自邻氟苯丙氨酸、间氟苯丙氨酸和对氟苯丙氨酸的氟化的芳族氨基酸。

[0208] 在某些实施方案中,肽被用作防垢剂,比如用于防止或抑制或最小化或减少以下中的一种或更多种:

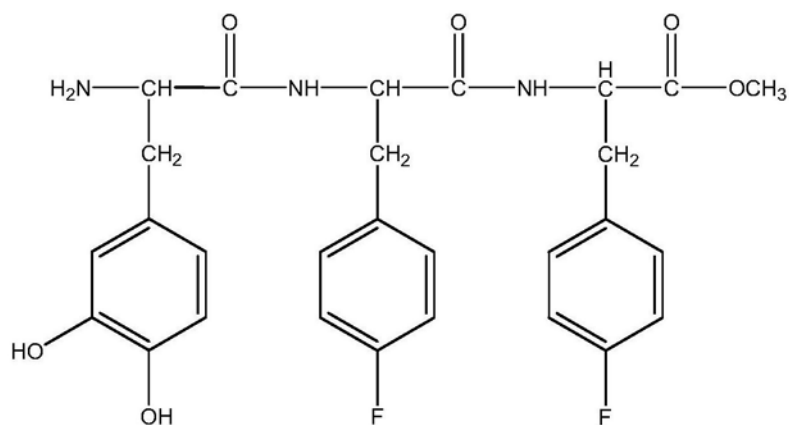
[0209] (a) 有机和/或生物有机材料吸附至表面;

[0210] (b) 蛋白质和/或多糖和聚脂质吸附至表面;

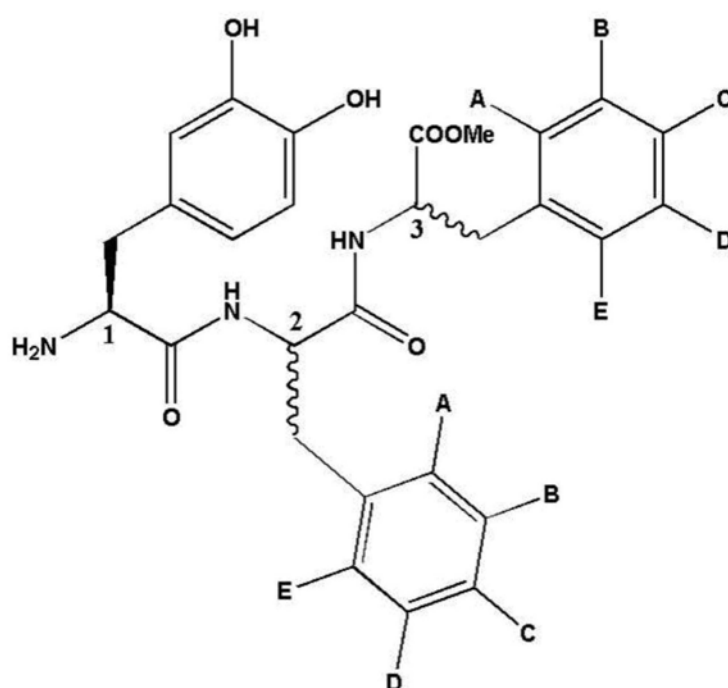
[0211] (c) 从多有机体或微生物的细胞分泌至表面上;以及

[0212] (d) 多有机体或微生物的细胞吸附至表面。

[0213] 本发明的特定的化合物选自



[0214]



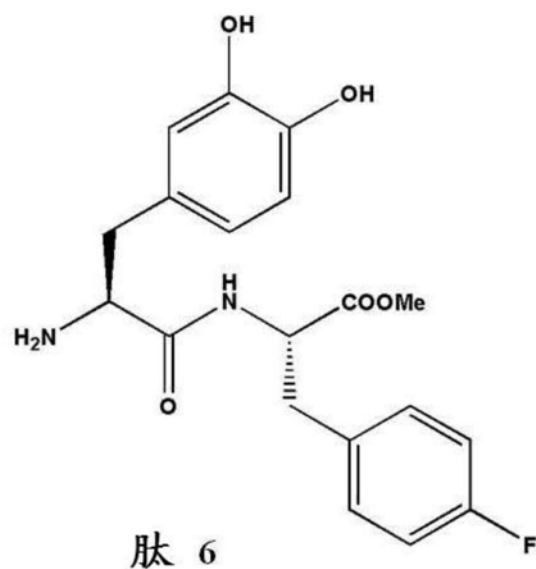
[0215] 肽1: (1S,2S,3S) A=B=D=E=-H,C=-F

[0216] 肽2: (1S,2S,3R) A=B=D=E=-H,C=-F

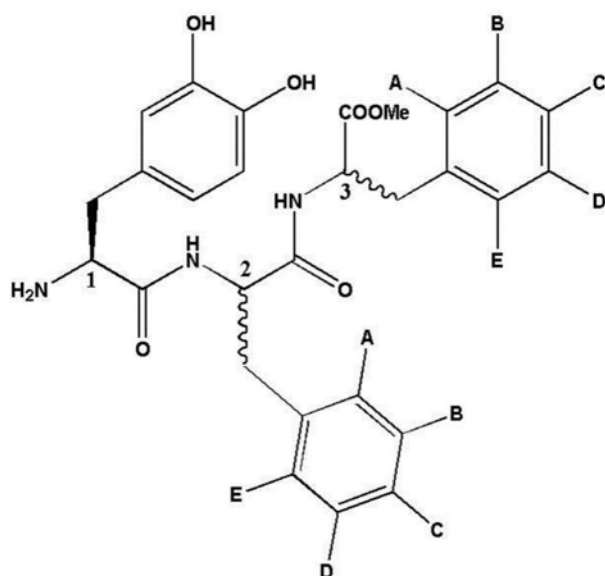
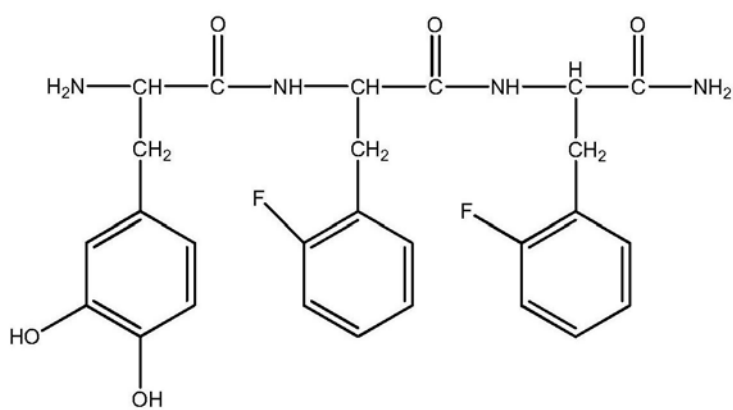
[0217] 肽3: (1S,2R,3S) A=B=D=E=-H,C=-F

[0218] 肽4: (1S,2R,3R) A=B=D=E=-H,C=-F

[0219] 肽5: (1S,2S,3S) A=B=C=D=E=-F



[0220]

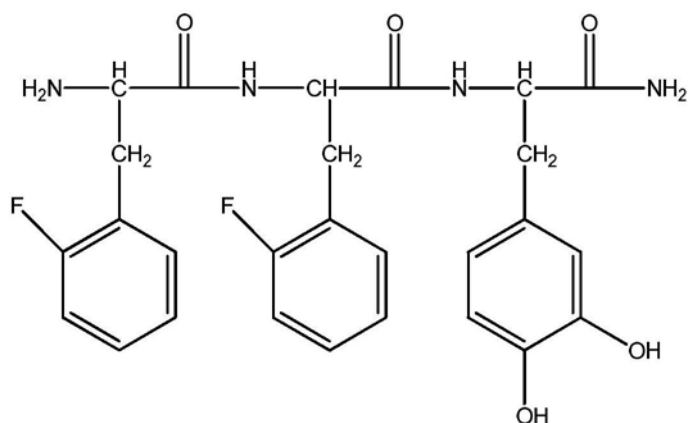


[0221] 肽7: (1S, 2S, 3S) A=B=C=D=-H, E=-F

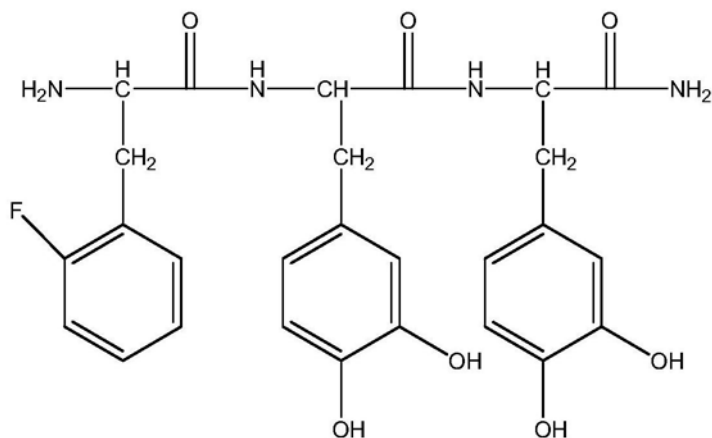
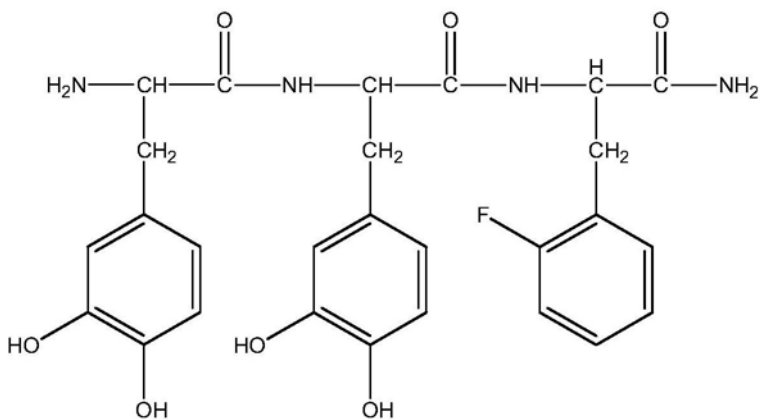
[0222] 肽8: (1S, 2S, 3R) A=B=C=D=-H, E=-F

[0223] 肽9: (1S, 2R, 3S) A=B=C=D=-H, E=-F

[0224] 肽10: (1S, 2R, 3R) A=B=C=D=-H, E=-F



[0225]

[0226]  $\text{NH}_2\text{-L-DOPA-L-(4-F)-Phe-COOH}$  肽15[0227]  $\text{NH}_2\text{-L-DOPA-D-(4-F)-Phe-COOH}$  肽16[0228]  $\text{NH}_2\text{-L-DOPA-L-(4-F)-Phe-L-(4-F)-Phe-COOMe}$  肽17。

[0229] 本发明还涵盖含有如本文描述的肽化合物的制剂。制剂可以是即用的防垢制剂。

[0230] 本发明还提供包含本发明的至少一种肽的薄膜或涂层。薄膜优选地是防垢的和/或抗生物膜。

[0231] 薄膜可以是包含包覆有根据本发明的薄膜的至少一个表面区域的物品或装置的一部分。物品或装置可以选自船舶、船舶的船体、医疗装置、接触镜、食品加工设备、饮用水分配设备、管道、电缆、渔网、桥的支柱和水浸的物品的表面区域。

[0232] 在这样的装置或物品中，薄膜用于防止由选自细菌、硅藻、水螅虫、藻类、苔藓虫、

原生动物、海鞘类、管虫、亚洲蛤、斑马贻贝和藤壶的有机体引起的生物结垢。在某些实施方案中,有机体是细菌。在某些实施方案中,细菌选自百日咳杆菌、伯氏疏螺旋体、流产布鲁氏菌、犬布鲁氏杆菌、羊布鲁氏杆菌、猪布鲁氏杆菌、空肠弯曲杆菌、衣原体肺炎、鹦鹉热衣原体、沙眼衣原体、肉毒杆菌、艰难梭菌、产气荚膜梭菌、破伤风梭菌、白喉杆菌、粪肠球菌、屎肠球菌、大肠杆菌(E.coli)、产肠毒素大肠杆菌(ETEC)、致病性大肠杆菌、土拉弗朗西斯菌、流感嗜血杆菌、幽门螺杆菌、嗜肺军团菌、肾脏钩端螺旋体、单核细胞增生李斯特氏菌、麻风分枝杆菌、结核分支杆菌、支原体肺炎、淋病奈瑟氏菌、脑膜炎奈瑟氏菌、绿脓杆菌、立氏立克次体、伤寒沙门氏菌、鼠伤寒沙门氏菌、宋内志贺菌、表皮葡萄球菌、腐生葡萄球菌、无乳链球菌、变异链球菌、肺炎链球菌、酿脓链球菌、梅毒螺旋体、霍乱弧菌、哈氏弧菌和鼠疫杆菌。

[0233] 在某些实施方案中,细菌是大肠杆菌(E.Coli)。在某些实施方案中,细菌是铜绿假单胞菌。

[0234] 本发明还提供根据本发明的肽的用途,所述用途用于防止或抑制多细胞有机体或微生物的细胞的分泌产物吸附至透析单元的表面以防止血细胞的粘附或从来自通过所述单元被治疗的患者的血细胞分泌的蛋白质的粘附。

[0235] 本发明另外提供用于抑制有机体、具有有机材料和/或生物有机材料的有机体的分泌物沉降、附着、累积和分散在表面上的方法,所述方法包括用有效量的包含根据本发明的肽的制剂接触所述表面。

[0236] 在另一个方面中,本发明提供包含具有至少一个防垢部分和至少一个表面吸附部分的化合物的薄膜或涂层,其中至少一个防垢部分选自氟(-F)和包含至少一个氟原子的基团,并且所述至少一个表面吸附部分选自3,4-二羟基-L-苯丙氨酸(DOPA)和含有DOPA的基团。在某些实施方案中,薄膜或涂层在装置或物品的表面区域上形成。

[0237] 本发明还提供包含含有至少一个防垢部分和至少一个表面吸附部分(或基团)的双官能化合物的薄膜或涂层,其中至少一个防垢部分选自氟(-F)和包含氟原子的至少一个基团,并且所述至少一个表面吸附部分选自二羟基-氨基酸和含有二羟基-氨基酸的基团,所述至少一个防垢部分和所述至少一个表面吸附部分经由共价键或经由连接基部分彼此缔合。薄膜或涂层可以包含至少一个防垢部分和至少一个表面吸附部分,其中至少一个防垢部分选自氟(-F)和包含氟原子的至少一个基团,并且所述至少一个表面吸附部分选自3,4-二羟基-L-苯丙氨酸(DOPA)和含有DOPA的基团,并且其中所述至少一个防垢部分和所述至少一个表面吸附部分经由共价键或经由连接基部分彼此缔合。

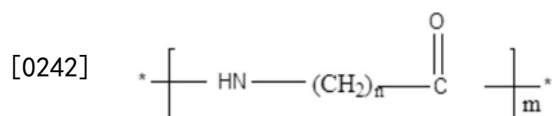
[0238] 在某些实施方案中,所述化合物具有通式A-L-F,其中A是表面吸附部分,L是连接A和F的共价键或连接基部分,并且F是防垢部分,并且其中A、L和F中的每个经由不可水解的键彼此缔合。

[0239] 薄膜或涂层是防垢的,用于防止或抑制有机材料和/或生物有机材料吸附至表面,或用于防止或抑制多细胞有机体或微生物的细胞的分泌产物吸附至表面。

[0240] 在某些实施方案中,表面吸附部分是与所述连接基部分上的原子连接、缔合或结合的DOPA。在某些实施方案中,所述连接基部分是一条碳链。在某些实施方案中,连接基部分选自被取代的或未被取代的碳链。在某些实施方案中,连接基部分选自氨基酸和肽。在某些实施方案中,连接基部分包含在1至40个之间的碳原子。在某些实施方案中,连接基部分

被选自以下的一个或多个官能团取代：被取代的或未被取代的烷基、被取代的或未被取代的烯基、被取代的或未被取代的炔基、被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的环烯基、被取代的或未被取代的环炔基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基、被取代的或未被取代的杂环基、被取代的或未被取代的 $-NR_1R_2$ 、被取代的或未被取代的 $-OR_3$ 、被取代的或未被取代的 $-SR_4$ 、被取代的或未被取代的 $-S(O)R_5$ 、被取代的或未被取代的亚烷基 $-COOH$ 和被取代的或未被取代的酯。

[0241] 在某些实施方案中，连接基部分具有通用结构



[0243] 其中

[0244] 每个\*表示连接点；

[0245] n是在0和40之间；并且

[0246] m是在1和40之间。

[0247] 在某些实施方案中，n是在1和12之间。在某些实施方案中，n是在1和8之间。在某些实施方案中，n是在1和6之间。在某些实施方案中，m是在1和20之间。在某些实施方案中，m是在1和12之间。在某些实施方案中，m是在1和8之间。在某些实施方案中，m是在1和6之间。

[0248] 在某些实施方案中， $(CH_2)_n$ 基团中的一个或多个被取代。

[0249] 在某些实施方案中，连接基部分是包含2个或3个或4个或5个或6个或7个或8个或9个或10个或11个或12个或13个或14个或15个或16个或17个或18个或19个或20个或21个或22个或23个或24个或25个或26个或27个或28个或29个或30个或31个或32个或33个或34个或35个或36个或37个或38个或39个或40个氨基酸的氨基酸。

[0250] 在某些实施方案中，化合物由经由酰胺键彼此结合的两个氨基酸构成，其中一个氨基酸是DOPA并且另一个是氟化的氨基酸。在某些实施方案中，防垢部分在连接基部分的一个末端处与连接基结合并且表面吸附部分在连接基部分的另一个末端处与连接基结合。在某些实施方案中，防垢部分和表面吸附部分沿着连接基部分处于交替的位置。

[0251] 在某些实施方案中，连接基部分包含两个或多个氨基酸的肽或由两个或多个氨基酸的肽组成。

[0252] 在某些实施方案中，化合物是具有至少两个氨基酸即至少一个DOPA和至少氟化的基团的肽，所述氟化的基团可以是或可以不是氟化的氨基酸。在某些实施方案中，肽包含在2和40个之间的氨基酸。在某些实施方案中，肽包含2个或3个或4个或5个或6个或7个或8个或9个或10个或11个或12个氨基酸。

[0253] 在某些实施方案中，所述防垢部分是选自天然的或非天然的氨基酸、氨基酸类似物、 $\alpha$ -形式或 $\beta$ -形式、和L-氨基酸或D-氨基酸的氟化的氨基酸。在某些实施方案中，氨基酸选自丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸、吡咯赖氨酸和硒代半胱氨酸；以及氨基酸类似物，诸如高氨基酸、N-烷基氨基酸、脱氢氨基酸、芳族氨基酸和 $\alpha, \alpha$ -双取代氨基酸、胱氨酸、5-羟基赖氨酸、4-羟基脯氨酸、 $\alpha$ -氨基己二酸、 $\alpha$ -氨基正丁酸、3,4-二羟基-苯丙氨酸、高丝氨酸、 $\alpha$ -甲基丝氨酸、鸟氨酸、哌啶酸、邻氨

基苯甲酸、间氨基苯甲酸或对氨基苯甲酸、瓜氨酸、刀豆氨酸、正亮氨酸、d-谷氨酸、氨基丁酸、L-苄基丙氨酸、L-3-苯并噻吩基丙氨酸和甲状腺素。

[0254] 在某些实施方案中,氨基酸选自芳族氨基酸。在某些实施方案中,所述芳族氨基酸选自色氨酸、酪氨酸、苯基丙氨酸和苯丙氨酸。

[0255] 在某些实施方案中,氨基酸选自苯丙氨酸和其衍生物。在某些实施方案中,苯丙氨酸衍生物选自4-甲氧基-苯丙氨酸、4-氨基亚胺甲基-1-苯丙氨酸、4-氯-苯丙氨酸、3-氰基-苯丙氨酸、4-溴-苯丙氨酸、4-氰基-苯丙氨酸、4-羟甲基-苯丙氨酸、4-甲基-苯丙氨酸、1-萘基-丙氨酸、3-(9-蒎基)-丙氨酸、3-甲基-苯丙氨酸、间脒基苯基-3-丙氨酸、苯基丝氨酸、苄基半胱氨酸、4,4-联苯基丙氨酸、2-氰基-苯丙氨酸、2,4-二氯-苯丙氨酸、3,4-二氯-苯丙氨酸、2-氯-苯丙氨酸、3,4-二羟基-苯丙氨酸、3,5-二溴酪氨酸、3,3-二苯基丙氨酸、3-乙基-苯丙氨酸、3,4-二氟-苯丙氨酸、3-氯-苯丙氨酸、3-氯-苯丙氨酸、2-氟-苯丙氨酸、3-氟-苯丙氨酸、4-氨基-L-苯丙氨酸、高苯丙氨酸、3-(8-羟基喹啉-3-基)-1-丙氨酸、3-碘-酪氨酸、犬尿氨酸、3,4-二甲基-苯丙氨酸、2-甲基-苯丙氨酸、间酪氨酸、2-萘基-丙氨酸、5-羟基-1-萘、6-羟基-2-萘、间硝基-酪氨酸、(β)-β-羟基-1-酪氨酸、(β)-3-氯-β-羟基-1-酪氨酸、邻酪氨酸、4-苯甲酰基-苯丙氨酸、3-(2-吡啶基)-丙氨酸、3-(3-吡啶基)-丙氨酸、3-(4-吡啶基)-丙氨酸、3-(2-喹啉基)-丙氨酸、3-(3-喹啉基)-丙氨酸、3-(4-喹啉基)-丙氨酸、3-(5-喹啉基)-丙氨酸、3-(6-喹啉基)-丙氨酸、3-(2-喹喔啉基)-丙氨酸、苯乙烯基丙氨酸、五氟-苯丙氨酸、4-氟-苯丙氨酸、苯丙氨酸、4-碘-苯丙氨酸、4-硝基-苯丙氨酸、磷酸酪氨酸、4-叔丁基-苯丙氨酸、2-(三氟甲基)-苯丙氨酸、3-(三氟甲基)-苯丙氨酸、4-(三氟甲基)-苯丙氨酸、3-氨基-L-酪氨酸、3,5-二碘酪氨酸、3-氨基-6-羟基-酪氨酸、酪氨酸、3,5-二氟-苯丙氨酸和3-氟酪氨酸。

[0256] 在某些实施方案中,所述氟化的氨基酸选自邻氟苯丙氨酸、间氟苯丙氨酸和对氟苯丙氨酸。

[0257] 在某些实施方案中,化合物包含在一个末端处的DOPA和在另一个末端处的选自邻氟苯丙氨酸、间氟苯丙氨酸和对氟苯丙氨酸的氟化的芳族氨基酸。

[0258] 在某些实施方案中,化合物包含沿着所述肽在中点氨基酸处的DOPA和在所述肽的末端的每个处的选自邻氟苯丙氨酸、间氟苯丙氨酸和对氟苯丙氨酸的氟化的芳族氨基酸。

[0259] 在某些实施方案中,薄膜或涂层被提供用于防止或抑制或最小化或减少以下中的一种或更多种:

[0260] (a) 有机和/或生物有机材料吸附至表面;

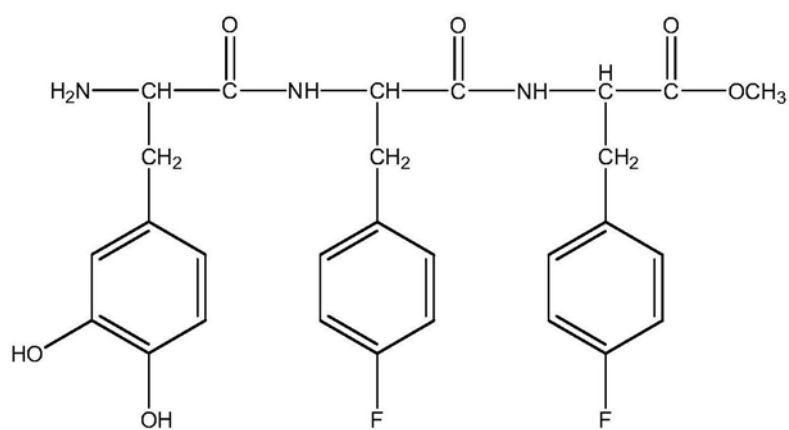
[0261] (b) 蛋白质和/或多糖和聚脂质吸附至表面;

[0262] (c) 从多有机体或微生物的细胞分泌至表面上;以及

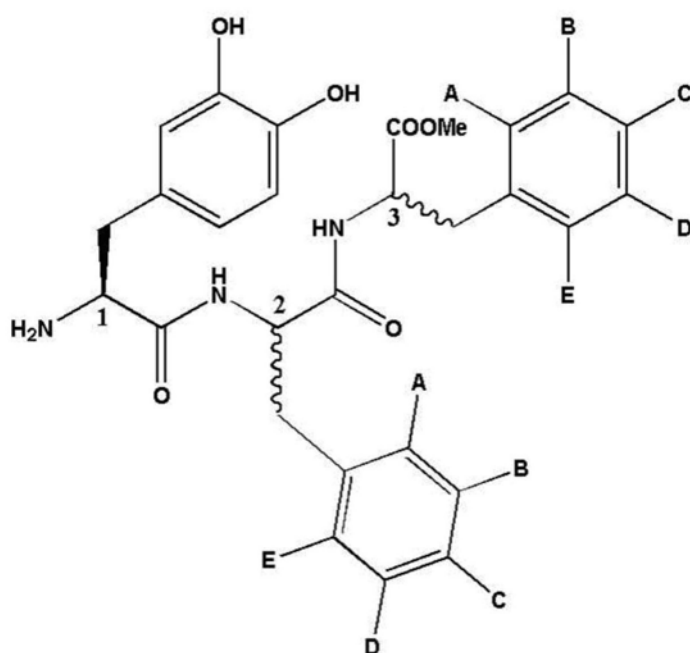
[0263] (d) 多有机体或微生物的细胞吸附至表面。

[0264] 在某些实施方案中,化合物具有结构:





[0265]



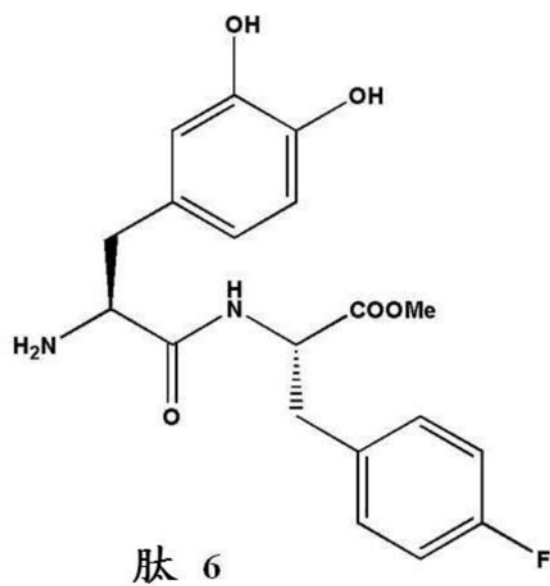
[0266] 肽1: (1S,2S,3S) A=B=D=E=-H,C=-F

[0267] 肽2: (1S,2S,3R) A=B=D=E=-H,C=-F

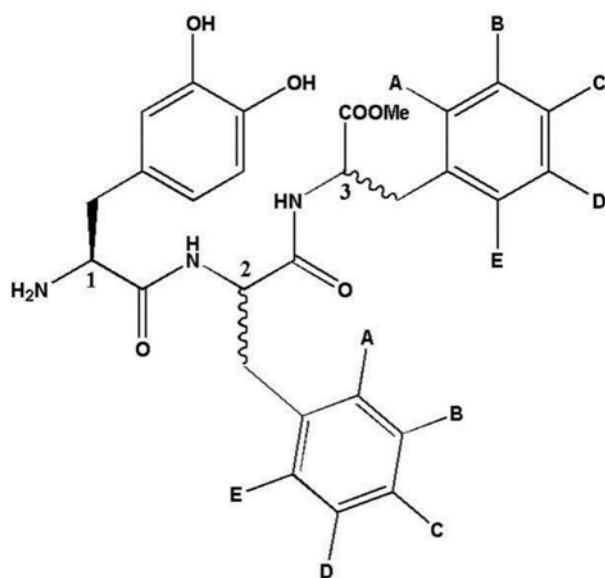
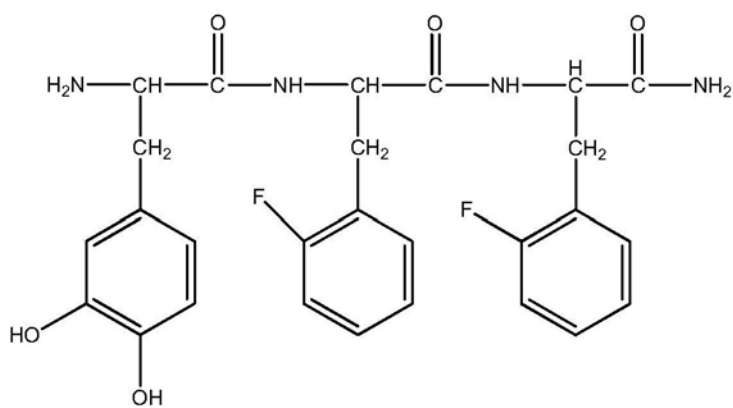
[0268] 肽3: (1S,2R,3S) A=B=D=E=-H,C=-F

[0269] 肽4: (1S,2R,3R) A=B=D=E=-H,C=-F

[0270] 肽5: (1S,2S,3S) A=B=C=D=E=-F



[0271]

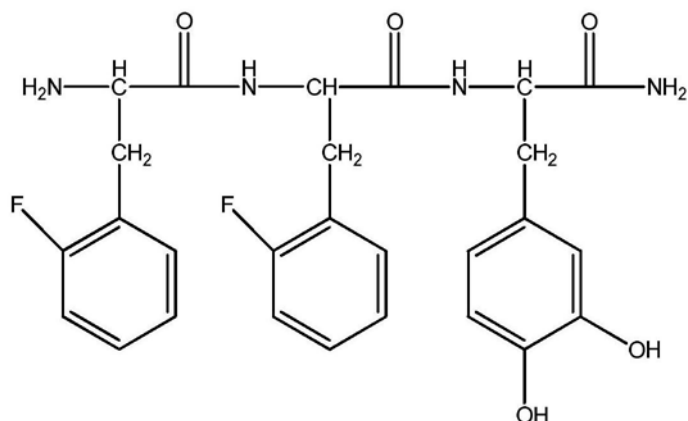


[0272] 肽7: (1S, 2S, 3S) A=B=C=D=-H, E=-F

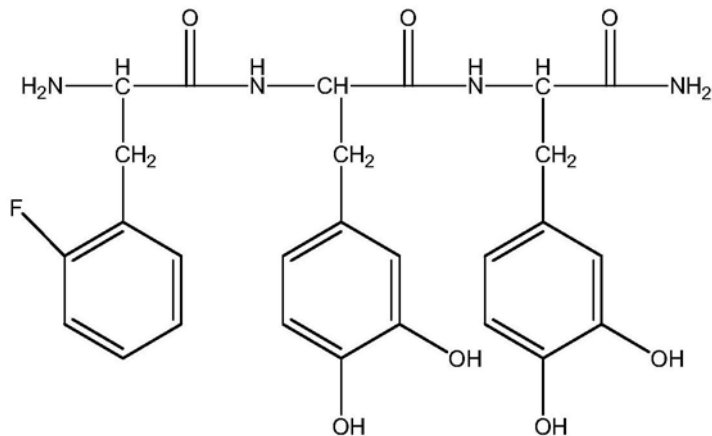
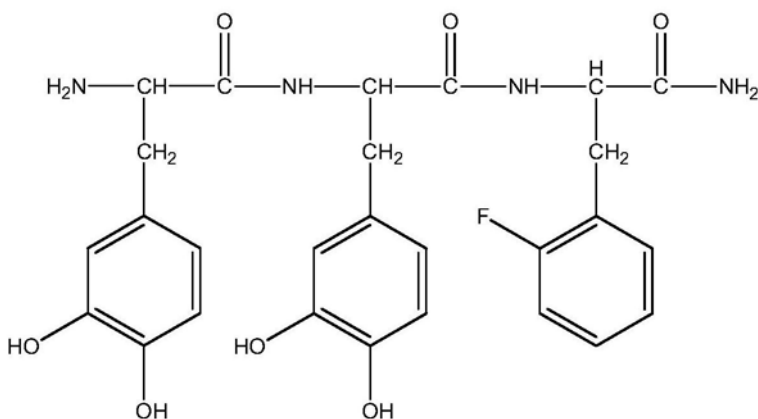
[0273] 肽8: (1S, 2S, 3R) A=B=C=D=-H, E=-F

[0274] 肽9: (1S, 2R, 3S) A=B=C=D=-H, E=-F

[0275] 肽10: (1S, 2R, 3R) A=B=C=D=-H, E=-F



[0276]



[0277] 在某些实施方案中,化合物选自:

[0278]  $\text{NH}_2\text{-L-DOPA-L-(4-F)-Phe-COOH}$  肽15

[0279]  $\text{NH}_2\text{-L-DOPA-D-(4-F)-Phe-COOH}$  肽16

[0280]  $\text{NH}_2\text{-L-DOPA-L-(4-F)-Phe-L-(4-F)-Phe-COOMe}$  肽17。

[0281] 本发明还提供包括包覆有根据本发明的薄膜或涂层的至少一个表面区域的物品或装置。在某些实施方案中,物品或装置选自船舶、船舶的船体、医疗装置、接触镜、食品加工设备、饮用水分配设备、管道、电缆、渔网、桥的支柱和水浸的物品的表面区域。

[0282] 在某些实施方案中,薄膜或涂层被提供用于防止由选自细菌、硅藻、水螅虫、藻类、苔藓虫、原生动物、海鞘类、管虫、亚洲蛤、斑马贻贝和藤壶的有机体引起的生物结垢。

[0283] 在某些实施方案中,有机体是细菌。在某些实施方案中,细菌选自百日咳杆菌、伯氏疏螺旋体、流产布鲁氏菌、犬布鲁氏杆菌、羊布鲁氏杆菌、猪布鲁氏杆菌、空肠弯曲杆菌、衣原体肺炎、鹦鹉热衣原体、沙眼衣原体、肉毒杆菌、艰难梭菌、产气荚膜梭菌、破伤风梭菌、白喉杆菌、粪肠球菌、尿肠球菌、大肠杆菌(E.coli)、产肠毒素大肠杆菌(ETEC)、致病性大肠杆菌、土拉弗朗西斯菌、流感嗜血杆菌、幽门螺杆菌、嗜肺军团菌、肾脏钩端螺旋体、单核细胞增生李斯特氏菌、麻风分枝杆菌、结核分支杆菌、支原体肺炎、淋病奈瑟氏菌、脑膜炎奈瑟氏菌、绿脓杆菌、立氏立克次体、伤寒沙门氏菌、鼠伤寒沙门氏菌、宋内志贺菌、表皮葡萄球菌、腐生葡萄球菌、无乳链球菌、变异链球菌、肺炎链球菌、酿脓链球菌、梅毒螺旋体、霍乱弧菌、哈氏弧菌和鼠疫杆菌。

[0284] 在某些实施方案中,细菌是大肠杆菌(E.Coli)。在某些实施方案中,细菌是铜绿假单胞菌。

[0285] 本发明还提供包含具有至少一个防垢部分和至少一个表面吸附部分的化合物的组合物,其中所述至少一个防垢部分选自氟(-F)和包含至少一个氟原子的基团,并且所述至少一个表面吸附部分选自3,4-二羟基-L-苯丙氨酸(DOPA)和含有DOPA的基团,所述组合物用于在装置或物品的表面区域上形成自组装的防垢薄膜或涂层。

[0286] 本发明还提供包含含有至少一个防垢部分和至少一个表面吸附部分(或基团)的双官能化合物的组合物,其中至少一个防垢部分选自氟(-F)和包含氟原子的至少一个基团,并且所述至少一个表面吸附部分选自二羟基-氨基酸和含有二羟基-氨基酸的基团,所述至少一个防垢部分和所述至少一个表面吸附部分经由共价键或经由连接基部分彼此缔合。

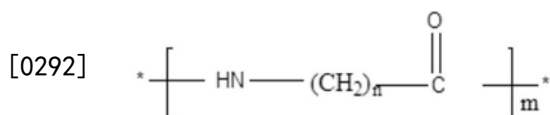
[0287] 在某些实施方案中,化合物包含至少一个防垢部分和至少一个表面吸附部分,其中至少一个防垢部分选自氟(-F)和包含氟原子的至少一个基团,并且所述至少一个表面吸附部分选自3,4-二羟基-L-苯丙氨酸(DOPA)和含有DOPA的基团,并且其中所述至少一个防垢部分和所述至少一个表面吸附部分经由共价键或经由连接基部分彼此缔合。

[0288] 在某些实施方案中,化合物具有通式A-L-F,其中A是表面吸附部分,L是连接A和F的共价键或连接基部分,并且F是防垢部分,并且其中A、L和F中的每个经由不可水解的键彼此缔合。

[0289] 组合物是防垢的,用于防止或抑制有机材料和/或生物有机材料吸附至所述表面,或用于防止或抑制多细胞有机体或微生物的细胞的分泌产物吸附至表面。

[0290] 在某些实施方案中,表面吸附部分是与所述连接基部分上的原子连接、缔合或结合的DOPA。在某些实施方案中,所述连接基部分是一个碳链。在某些实施方案中,连接基部分选自被取代的或未被取代的碳链。在某些实施方案中,连接基部分选自氨基酸和肽。在某些实施方案中,连接基部分包含在1至40个之间的碳原子。在某些实施方案中,连接基部分被选自以下的一个或更多个官能团取代:被取代的或未被取代的烷基、被取代的或未被取代的烯基、被取代的或未被取代的炔基、被取代的或未被取代的环烷基、被取代的或未被取代的环烯基、被取代的或未被取代的环炔基、被取代的或未被取代的芳基、被取代的或未被取代的杂芳基、被取代的或未被取代的杂环基、被取代的或未被取代的-NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>、被取代的或未被取代的-OR<sub>3</sub>、被取代的或未被取代的-SR<sub>4</sub>、被取代的或未被取代的-S(O)R<sub>5</sub>、被取代的或未被取代的亚烷基-COOH和被取代的或未被取代的酯。

[0291] 在某些实施方案中,连接基部分具有通用结构



[0293] 其中

[0294] 每个\*表示连接点;

[0295] n是在0和40之间;并且

[0296] m是在1和40之间。

[0297] 在某些实施方案中,n是在1和12之间。在某些实施方案中,n是在1和8之间。在某些实施方案中,n是在1和6之间。在某些实施方案中,m是在1和20之间。在某些实施方案中,m是在1和12之间。在某些实施方案中,m是在1和8之间。在某些实施方案中,m是在1和6之间。

[0298] 在某些实施方案中,(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>基团中的一个或多个被取代。

[0299] 在某些实施方案中,连接基部分是包含2个或3个或4个或5个或6个或7个或8个或9个或10个或11个或12个或13个或14个或15个或16个或17个或18个或19个或20个或21个或22个或23个或24个或25个或26个或27个或28个或29个或30个或31个或32个或33个或34个或35个或36个或37个或38个或39个或40个氨基酸的氨基酸。

[0300] 在某些实施方案中,化合物由经由酰胺键彼此结合的两个氨基酸构成,其中一个氨基酸是DOPA并且另一个是氟化的氨基酸。在某些实施方案中,防垢部分在连接基部分的一个末端处与连接基结合并且表面吸附部分在连接基部分的另一个末端处与连接基结合。在某些实施方案中,防垢部分和表面吸附部分沿着连接基部分处于交替的位置。

[0301] 在某些实施方案中,连接基部分包含两个或多个氨基酸的肽或由两个或多个氨基酸的肽组成。

[0302] 在某些实施方案中,化合物是具有至少两个氨基酸即至少一个DOPA和至少氟化的基团的肽,所述氟化的基团可以是或可以不是氟化的氨基酸。在某些实施方案中,肽包含在2和40个之间的氨基酸。在某些实施方案中,肽包含2个或3个或4个或5个或6个或7个或8个或9个或10个或11个或12个氨基酸。

[0303] 在某些实施方案中,所述防垢部分是选自天然的或非天然的氨基酸、氨基酸类似物、α-形式或β-形式、和L-氨基酸或D-氨基酸的氟化的氨基酸。在某些实施方案中,氨基酸选自丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸、吡咯赖氨酸和硒代半胱氨酸;以及氨基酸类似物,诸如高氨基酸、N-烷基氨基酸、脱氢氨基酸、芳族氨基酸和α,α-双取代氨基酸、胱氨酸、5-羟基赖氨酸、4-羟基脯氨酸、α-氨基己二酸、α-氨基正丁酸、3,4-二羟基-苯丙氨酸、高丝氨酸、α-甲基丝氨酸、鸟氨酸、哌啶酸、邻氨基苯甲酸、间氨基苯甲酸或对氨基苯甲酸、瓜氨酸、刀豆氨酸、正亮氨酸、d-谷氨酸、氨基丁酸、L-苄基丙氨酸、L-3-苯并噻吩基丙氨酸和甲状腺素。

[0304] 在某些实施方案中,氨基酸选自芳族氨基酸。在某些实施方案中,所述芳族氨基酸选自色氨酸、酪氨酸、苯基丙氨酸和苯丙氨酸。

[0305] 在某些实施方案中,氨基酸选自苯丙氨酸和其衍生物。在某些实施方案中,苯丙氨酸衍生物选自4-甲氧基-苯丙氨酸、4-氨基亚胺甲基-1-苯丙氨酸、4-氯-苯丙氨酸、3-氰基-

苯丙氨酸、4-溴-苯丙氨酸、4-氰基-苯丙氨酸、4-羟甲基-苯丙氨酸、4-甲基-苯丙氨酸、1-萘基-丙氨酸、3-(9-蒎基)-丙氨酸、3-甲基-苯丙氨酸、间脒基苯基-3-丙氨酸、苯基丝氨酸、苄基半胱氨酸、4,4-联苯基丙氨酸、2-氰基-苯丙氨酸、2,4-二氯-苯丙氨酸、3,4-二氯-苯丙氨酸、2-氯-苯丙氨酸、3,4-二羟基-苯丙氨酸、3,5-二溴酪氨酸、3,3-二苯基丙氨酸、3-乙基-苯丙氨酸、3,4-二氟-苯丙氨酸、3-氯-苯丙氨酸、3-氯-苯丙氨酸、2-氟-苯丙氨酸、3-氟-苯丙氨酸、4-氨基-L-苯丙氨酸、高苯丙氨酸、3-(8-羟基喹啉-3-基)-1-丙氨酸、3-碘-酪氨酸、犬尿氨酸、3,4-二甲基-苯丙氨酸、2-甲基-苯丙氨酸、间酪氨酸、2-萘基-丙氨酸、5-羟基-1-萘、6-羟基-2-萘、间硝基-酪氨酸、(β)-β-羟基-1-酪氨酸、(β)-3-氯-β-羟基-1-酪氨酸、邻酪氨酸、4-苯甲酰基-苯丙氨酸、3-(2-吡啶基)-丙氨酸、3-(3-吡啶基)-丙氨酸、3-(4-吡啶基)-丙氨酸、3-(2-喹啉基)-丙氨酸、3-(3-喹啉基)-丙氨酸、3-(4-喹啉基)-丙氨酸、3-(5-喹啉基)-丙氨酸、3-(6-喹啉基)-丙氨酸、3-(2-喹喔啉基)-丙氨酸、苯乙烯基丙氨酸、五氟-苯丙氨酸、4-氟-苯丙氨酸、苯丙氨酸、4-碘-苯丙氨酸、4-硝基-苯丙氨酸、磷酸酪氨酸、4-叔丁基-苯丙氨酸、2-(三氟甲基)-苯丙氨酸、3-(三氟甲基)-苯丙氨酸、4-(三氟甲基)-苯丙氨酸、3-氨基-L-酪氨酸、3,5-二碘酪氨酸、3-氨基-6-羟基-酪氨酸、酪氨酸、3,5-二氟-苯丙氨酸和3-氟酪氨酸。

[0306] 在某些实施方案中,所述氟化的氨基酸选自邻氟苯丙氨酸、间氟苯丙氨酸和对氟苯丙氨酸。

[0307] 在某些实施方案中,化合物包含在一个末端处的DOPA和在另一个末端处的选自邻氟苯丙氨酸、间氟苯丙氨酸和对氟苯丙氨酸的氟化的芳族氨基酸。

[0308] 在某些实施方案中,化合物包含沿着所述肽在中点氨基酸处的DOPA和在所述肽的末端的每个处的选自邻氟苯丙氨酸、间氟苯丙氨酸和对氟苯丙氨酸的氟化的芳族氨基酸。

[0309] 在某些实施方案中,薄膜或涂层被提供用于防止或抑制或最小化或减少以下中的一种或更多种:

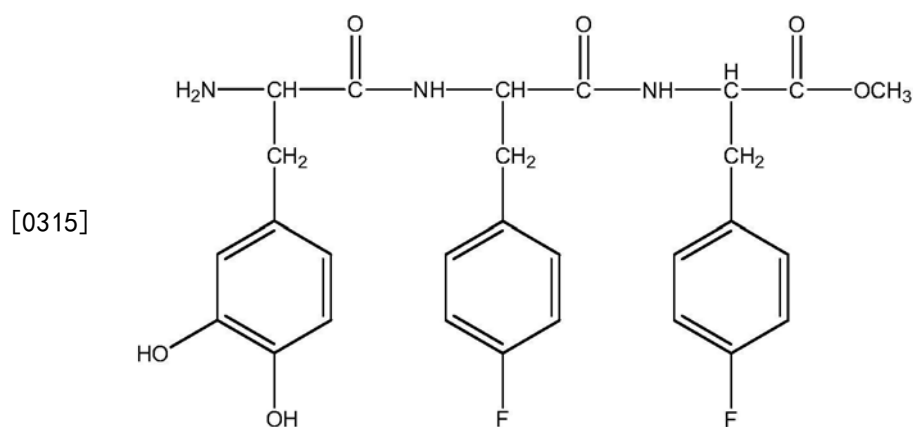
[0310] (a) 有机和/或生物有机材料吸附至表面;

[0311] (b) 蛋白质和/或多糖和聚脂质吸附至表面;

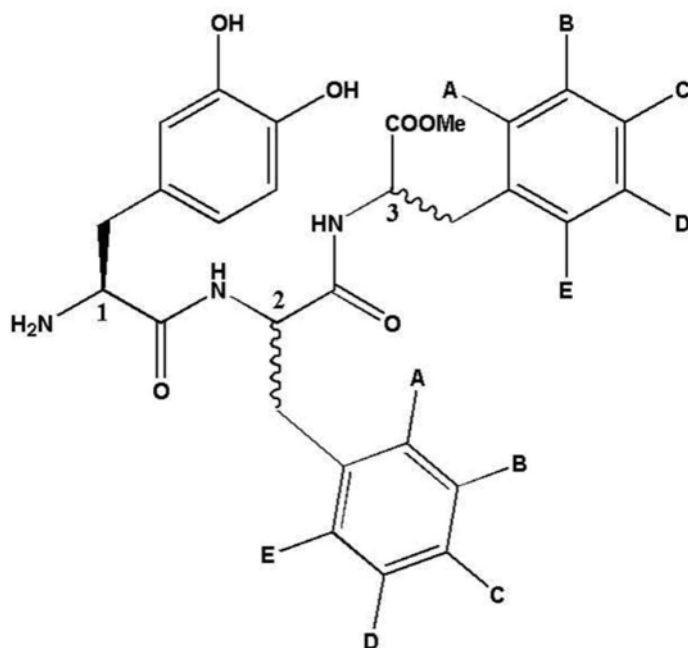
[0312] (c) 从多有机体或微生物的细胞分泌至表面上;以及

[0313] (d) 多有机体或微生物的细胞吸附至表面。

[0314] 在某些实施方案中,化合物具有结构:



[0316]



[0317] 肽1: (1S,2S,3S) A=B=D=E=-H,C=-F

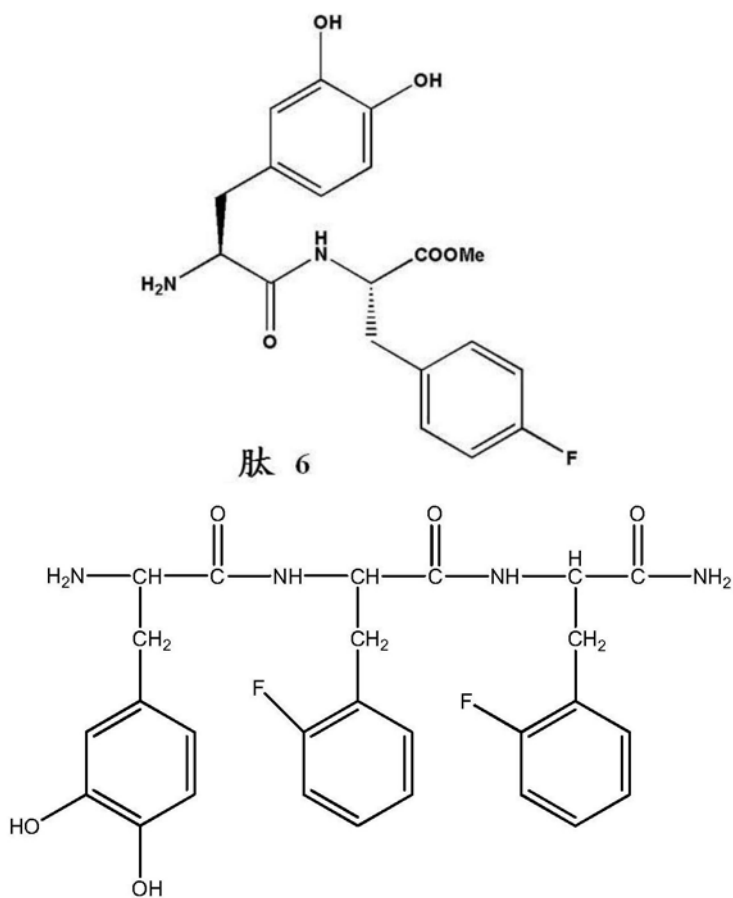
[0318] 肽2: (1S,2S,3R) A=B=D=E=-H,C=-F

[0319] 肽3: (1S,2R,3S) A=B=D=E=-H,C=-F

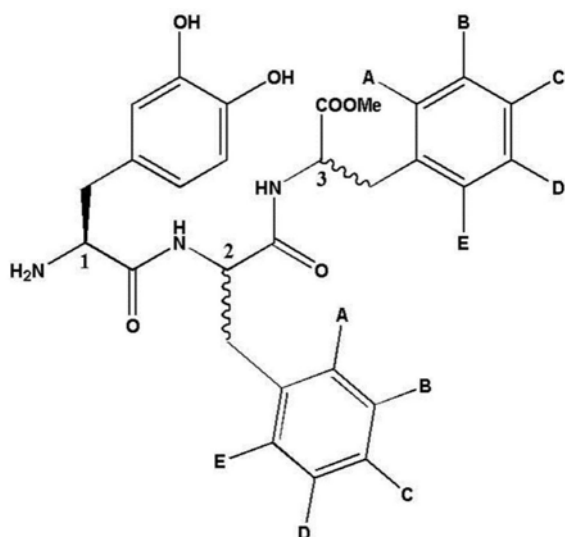
[0320] 肽4: (1S,2R,3R) A=B=D=E=-H,C=-F

[0321] 肽5: (1S,2S,3S) A=B=C=D=E=-F

[0322]



[0323]

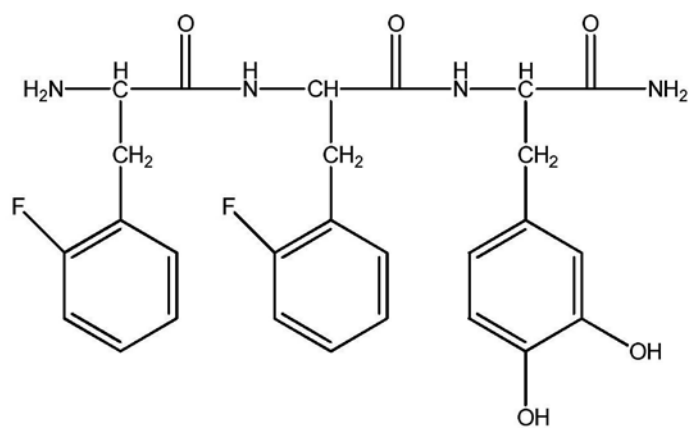


[0324] 肽7: (1S, 2S, 3S) A=B=C=D=-H, E=-F

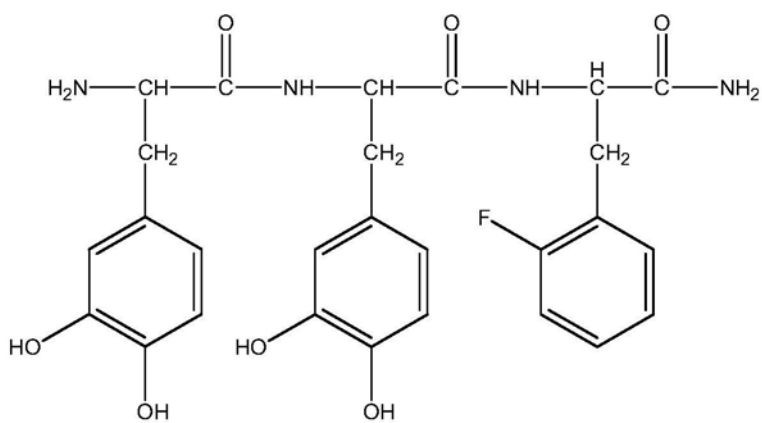
[0325] 肽8: (1S, 2S, 3R) A=B=C=D=-H, E=-F

[0326] 肽9: (1S, 2R, 3S) A=B=C=D=-H, E=-F

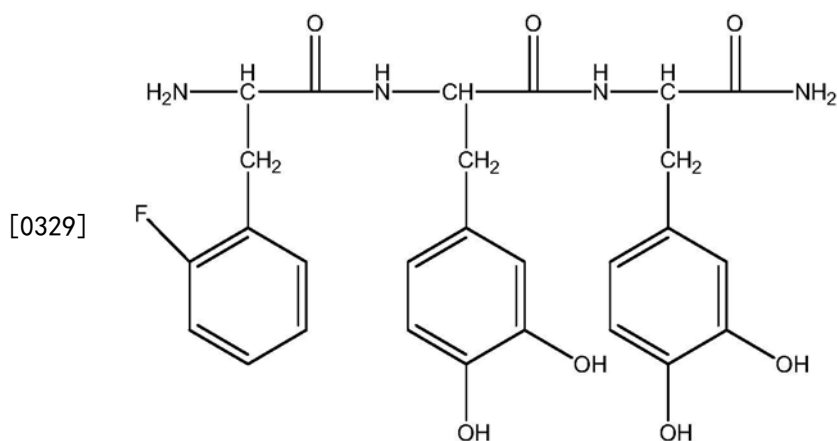
[0327] 肽10: (1S, 2R, 3R) A=B=C=D=-H, E=-F



[0328]







[0330] 在某些实施方案中,化合物选自:

[0331]  $\text{NH}_2\text{-L-DOPA-L-(4-F)-Phe-COOH}$  肽15

[0332]  $\text{NH}_2\text{-L-DOPA-D-(4-F)-Phe-COOH}$  肽16

[0333]  $\text{NH}_2\text{-L-DOPA-L-(4-F)-Phe-L-(4-F)-Phe-COOMe}$  肽17。

[0334] 在某些实施方案中,组合物被提供用于防止由选自细菌、硅藻、水螅虫、藻类、苔藓虫、原生动物、海鞘类、管虫、亚洲蛤、斑马贻贝和藤壶的有机体引起的生物结垢。

[0335] 在某些实施方案中,有机体是细菌。在某些实施方案中,细菌选自百日咳杆菌、伯氏疏螺旋体、流产布鲁氏菌、犬布鲁氏杆菌、羊布鲁氏杆菌、猪布鲁氏杆菌、空肠弯曲杆菌、衣原体肺炎、鹦鹉热衣原体、沙眼衣原体、肉毒杆菌、艰难梭菌、产气荚膜梭菌、破伤风梭菌、白喉杆菌、粪肠球菌、屎肠球菌、大肠杆菌 (E.coli)、产肠毒素大肠杆菌 (ETEC)、致病性大肠杆菌、土拉弗朗西斯菌、流感嗜血杆菌、幽门螺杆菌、嗜肺军团菌、肾脏钩端螺旋体、单核细胞增生李斯特氏菌、麻风分枝杆菌、结核分枝杆菌、支原体肺炎、淋病奈瑟氏菌、脑膜炎奈瑟氏菌、绿脓杆菌、立氏立克次体、伤寒沙门氏菌、鼠伤寒沙门氏菌、宋内志贺菌、表皮葡萄球菌、腐生葡萄球菌、无乳链球菌、变异链球菌、肺炎链球菌、酿脓链球菌、梅毒螺旋体、霍乱弧菌、哈氏弧菌和鼠疫杆菌。

[0336] 在某些实施方案中,细菌是大肠杆菌 (E.Coli)。在某些实施方案中,细菌是铜绿假单胞菌。

[0337] 本发明还提供包含根据本发明的组合物的防垢制剂。还提供了包含本发明的组合物的抗微生物制剂。进一步提供了包含本发明的组合物的抗菌制剂。

[0338] 本发明还提供包含根据本发明的组合物和使用说明书的试剂盒。

[0339] 本发明还提供了根据本发明的组合物用于制造防垢制剂或抗微生物制剂或抗菌制剂的用途。

[0340] 本发明还提供了用于在表面区域上形成多种化合物的薄膜或涂层的方法,化合物各自包含至少一个防垢部分和至少一个表面吸附部分,其中至少一个防垢部分选自氟 (-F) 和包含至少一个氟原子的基团,并且所述至少一个表面吸附部分选自 3,4-二羟基-L-苯丙氨酸 (DOPA) 和含有 DOPA 的基团,所述方法包括使所述表面区域与所述化合物接触以及允许所述化合物自组装在所述表面区域上。

[0341] 在某些实施方案中,所述表面区域是装置或物品。在某些实施方案中,化合物作为制剂被提供。在某些实施方案中,所述薄膜或涂层具有选自防垢、抗微生物和抗菌的性质。

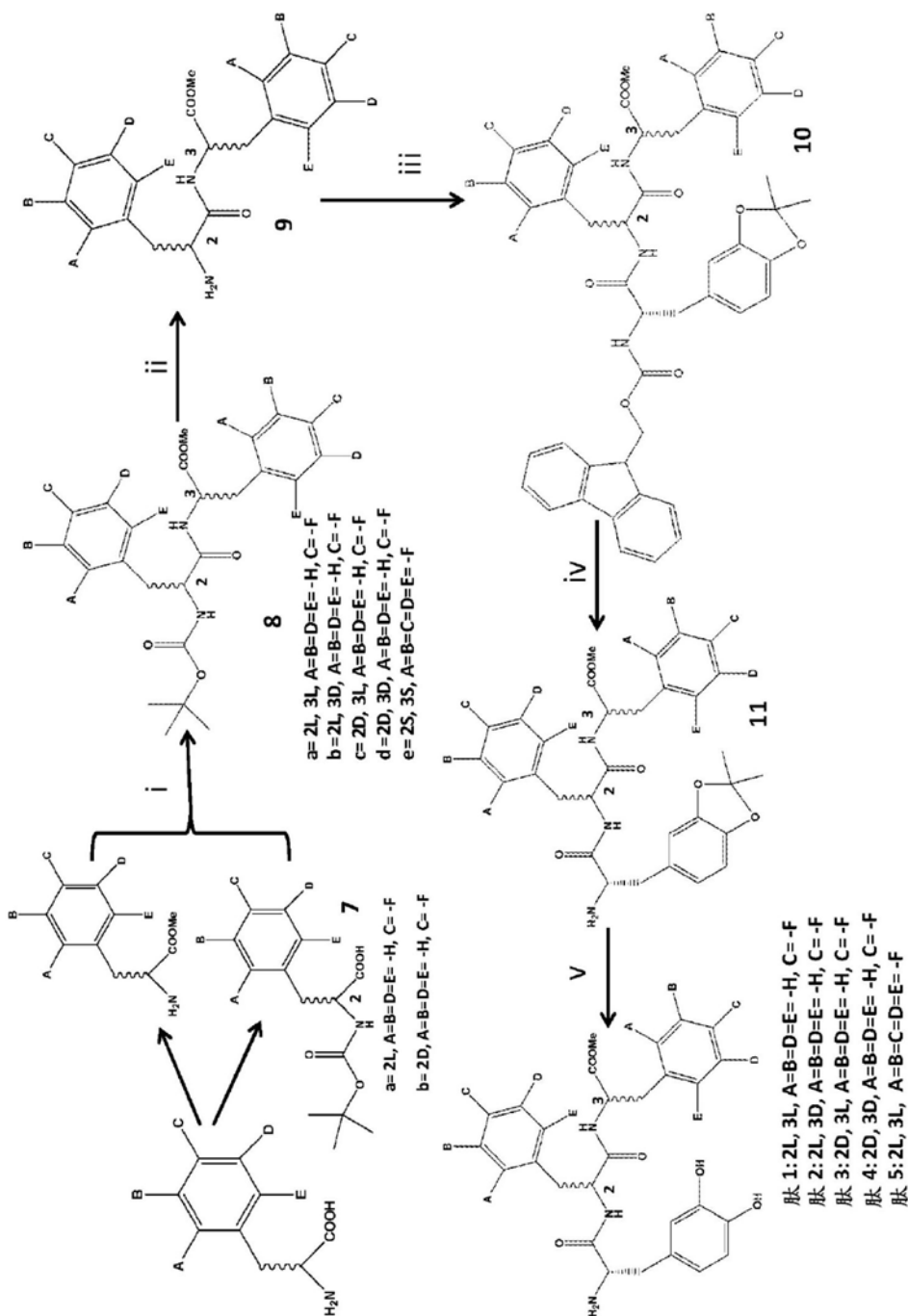
**[0342] 材料和方法**

**[0343]** 除非另外表明,否则所有化学品、溶剂、蛋白质和细菌购自商业上可获得的公司并且如所供应的被使用。Fmoc-DOPA(ac)-COOH从Novabiochem/EMD chemicals (San-Diego, USA) 获得。L-4-氟-苯丙氨酸和D-4-氟-苯丙氨酸、Boc-五氟-phe-COOH购自chem-impex Inc. (Wood Dale, USA)。溶剂和TFA购自Bio-lab (Jerusalem, Israel)。NMR溶剂(CDCl<sub>3</sub>和DMSO-d<sub>6</sub>)由Sigma-Aldrich (Jerusalem, Israel) 提供。用于Fmoc基团脱保护的哌啶从Alfa-Aesar (UK) 获得。蛋白质BSA、纤维蛋白原和溶菌酶分别从Sigma-Aldrich (Jerusalem, Israel)、Chem impex INC. (Wood Dale, USA) 和Merck (Darmstadt, Germany) 获得。铜绿假单胞菌(ATCC 27853)和大肠杆菌(ATCC 1655)购自ATCC (Virginia, USA)。结晶紫从Merck (Germany) 获得。

**[0344] 肽合成**

**[0345]** NMR光谱使用Bruker DRX 400光谱仪在400.13MHz (<sup>1</sup>H) 获得。肽的质量使用Applied Biosystem Voyager-DE pro MALDI TOF质谱仪来测量。肽通过常规溶液相方法使用无外消旋化策略来合成。Boc基团和Fmoc基团被用于N末端保护并且C末端被保护为甲酯。通过二环己基碳二亚胺/1-羟基苯并三唑(DCC/HOBt) 介导偶联。中间体化合物通过<sup>1</sup>H NMR和MALDI-TOF质谱学来表征,并且最终的肽完全通过<sup>1</sup>H NMR、<sup>13</sup>C NMR、<sup>19</sup>F NMR、MALDI-TOF来表征。

[0346]



[0347] 方案2:反应和条件:(i) DCC, HOBT, 干燥的DCM (ii) 20% TFA于DCM中, (iii) Fmoc-DOPA(ac)-COOH, DCC, HOBT, 干燥的DCM (iv) 20% 哌啶于DMF中 (v) 95% TFA/H<sub>2</sub>O于DCM中

#### [0348] A. 合成肽1

[0349] 1. Boc-L-(4F) Phe-COOH 7a: 将于二氧六环 (20mL)、水 (20mL) 和 1M NaOH (10mL) 的混合物中的 L-4F-Phe-COOH 1.97g (10mmol) 的溶液搅拌并且在冰水浴中冷却。添加焦碳酸二叔丁酯 2.4g (11mmol) 并且搅拌在室温持续进行 6h。然后将溶液在真空中浓缩至约 15-20mL, 在冰水浴中冷却, 用乙酸乙酯层 (约 30mL) 覆盖并且添加 KHSO<sub>4</sub> 的稀溶液以酸化 (pH 2-3)。将水相用乙酸乙酯萃取并且此操作进行三次。收集乙酸乙酯萃取物并且用无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥并且在真空中蒸发。纯材料作为蜡状固体被获得。

[0350] 收率: 2.115g (7.25mmol, 72.5%)

[0351]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 400MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 12.60 [s, 1H COOH], 7.29–7.25 & 7.11–7.07 [m, 4H, 芳族质子], 4.10–3.00 [m, 1H, CaH 4F Phe], 3.03–2.77 [m, 2H, CBH 4F Phe], 1.33 [s, 9H, Boc]。

[0352] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [M+H]^+ 284.12$  (计算的), 284.29 (观察到的),  $[M+Na]^+ 306.11$  (计算的), 306.25 (观察到的)。

[0353] 2. Boc-L-(4F) Phe (2) -L-(4F) Phe (3) -COOMe 8a: 将 500mg (1.766mmol) 的 Boc-L-(4F) Phe-OH 在冰水浴中溶解在 25mL 干燥的 DCM 中。通过中和, 随后用乙酸乙酯萃取以及溶剂蒸发将  $\text{NH}_2$ -L-(4F) Phe-OMe 697.13mg (3.532mmol) 从对应的甲酯盐酸盐分离。然后将其加至反应混合物, 随后直接添加 365mg (1.766mmol) 二环己基碳二亚胺 (DCC) 和 239mg (1.766mmol) 的 HOBt。反应混合物被允许达到室温并且搅拌持续 48h。将 DCM 蒸发并且将残留物溶解在乙酸乙酯 (60mL) 中并且将二环己基脲 (DCU) 滤出。有机层用 2M HCl ( $3 \times 30\text{mL}$ ), 盐水 ( $2 \times 30\text{mL}$ ), 1M 碳酸钠 ( $3 \times 30\text{mL}$ ) 和盐水 ( $2 \times 30\text{mL}$ ) 洗涤并且用无水硫酸钠干燥; 并且在真空中蒸发以产生化合物 8a, 为白色固体。产物通过硅胶 (100-200 目) 使用正己烷-乙酸乙酯 (4:1) 作为洗脱剂来纯化。

[0354] 收率: 616.6mg (1.334mmol, 75.5%)

[0355]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 7.16–7.12 & 6.99–6.90 [m, 8H, 芳族质子], 6.27–6.25 [d, 1H, NH 4F Phe (3)], 4.93 [b, 1H, NH 4F Phe (2)], 4.77–4.72 [m, 1H, CaH 4F Phe (3)], 4.28–4.27 [m, 1H, CaH 4F Phe (2)], 3.67 [s, 3H, OMe], 3.08–2.98 [m, 4H, CBH 4F Phe (2) 和 4F Phe (3)], 1.41 [s, 9H, Boc]。

[0356] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [M+Na]^+ 485.18$  (计算的), 485.45 (观察到的),  $[M+K]^+ 501.16$  (计算的), 501.32 (观察到的)。

[0357] 3.  $\text{NH}_2$ -L-(4F) Phe (2) -L-(4F) Phe (3) -COOMe 9a: 将 600mg (1.298mmol) 化合物 8a 在冰浴中溶解在 16mL 的 DCM 中。然后添加 4mL 的 TFA 并且搅拌持续 2h。通过 TLC (薄层色谱法) 监测反应的进展。在完成反应之后, 将全部溶剂在旋转蒸发仪中蒸发。将产物溶解在水中, 用  $\text{NaHCO}_3$  溶液中和并且用乙酸乙酯萃取, 用无水硫酸钠干燥, 进入旋转蒸发仪中蒸发以得到油状产物 9a。

[0358] 收率: 435.3mg (1.202mmol, 92.6%)

[0359]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 400MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 9.06–9.05 [d, 1H, NH 4F Phe (3)], 7.32–7.26 & 7.17–7.04 [m, 8H, 芳族质子], 4.57–4.51 [m, 1H, CaH 4F Phe (3)], 4.04–3.96 [m, 1H, CaH 4F Phe (2)], 3.61 [s, 3H, OMe], 3.18–2.91 [m, 4H, CBH 4F Phe (2) 和 4F Phe (3)]。

[0360] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [M+2H]^+ 364.14$  (计算的), 364.34 (观察到的),  $[M+H_2O]^+ 480.15$  (计算的), 480.35 (观察到的)。

[0361] 4. Fmoc-L-DOPA (ac) -L-(4F) Phe (2) -L-(4F) Phe (3) -COOMe 10a: 将 430mg (1.187mmol) 的化合物 9a 在冰水浴中溶解在 25mL 干燥的 DCM 中并且添加 652.37mg (1.42mmol) 的 Fmoc-L-DOPA (ac) -COOH。然后将 245mg (1.187mmol) 二环己基碳二亚胺 (DCC) 和 161mg (1.187mmol) 的 HOBt 加至反应混合物。混合物被允许达到室温并且搅拌持续 48h。将 DCM 蒸发并且将残留物溶解在乙酸乙酯 (60mL) 中并且将二环己基脲 (DCU) 滤出。将有机层用水洗涤, 萃取, 用无水硫酸钠干燥并且在真空中蒸发以产生化合物 10a, 为白色固体。产物通过硅胶 (100-200 目) 使用正己烷-乙酸乙酯 (4:1) 作为洗脱剂来纯化。

[0362] 收率:594.8mg (0.74mmol,62.4%)

[0363]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ,400MHz, $\delta_{\text{ppm}}$ ):7.77-7.75,7.54-7.50,7.42-7.38,7.33-7.29[d&m,8H,Fmoc芳族质子],7.05-6.86[m,8H,4F Phe (2)和4F Phe (3)芳族质子],6.62-6.55[s&m,3H,DOPA芳族质子],6.50[b,1H,NH4F Phe (2)],6.19[b,1H,NH 4F Phe (3)],5.17[b,1H,NH DOPA],4.68-4.66[m,1H,CaH DOPA],4.54-4.52[m,1H,,CaH 4F Phe (2)],4.47-4.42[m,1H,,CaH 4F Phe (3)],4.31(b,2H,C $\beta$ H Fmoc),4.20-4.17[m,1H,CaH Fmoc],3.65[s,3H,OMe],2.98-2.92[m,6H,C $\beta$ H 4F Phe (2) 4F Phe (3)&DOPA],1.62[s,6H,2 $\times$ COCH $_3$ ]。

[0364] MALDI-TOF (基质: $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸(CHCA)):m/z=[M+H] $^+$ 804.31(计算的),804.70(观察到的),[M+Na+2H] $^+$ 828.30(计算的),828.07(观察到的),[M+K+H] $^+$ 843.27(计算的),843.60(观察到的)。

[0365] 5.NH $_2$ -L-DOPA(ac)-L-(4F)Phe(2)-L-(4F)Phe(3)-COOMe 11a:将580mg(0.721mmol)的化合物10a用15mL 20%哌啶溶液处理并且在室温下搅拌持续3h。反应的完成通过TLC来监测。然后将溶液冻干并且用柱色谱法纯化以得到纯粘性化合物11a。

[0366] 收率:275.6mg (0.474mmol,65.8%)

[0367]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ,400MHz, $\delta_{\text{ppm}}$ ):8.53[b,1H,NH 4F Phe (2)],7.96[b,1H,NH 4F Phe (3)],7.24-7.23,7.10-7.04[m,8H,4F Phe (2)和4F Phe (3)芳族质子],6.69-6.65,6.55-6.53[m,3H,DOPA芳族质子],5.56[m,1H,CaH DOPA],4.56[m,1H,CaH 4F Phe (2)],4.47[m,1H,4F Phe (3)],3.61[s,3H,OMe],3.12-2.73[m,6H,C $\beta$ H 4F Phe (2) 4F Phe (3)&DOPA],1.61-1.58[d,6H,2 $\times$ COCH $_3$ ]。

[0368] MALDI-TOF (基质: $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸(CHCA)):m/z=[M+H] $^+$ 582.23(计算的),582.25(观察到的),[M+Na] $^+$ 604.22(计算的),604.37(观察到的),[M+K] $^+$ 620.20(计算的),620.19(观察到的)。

[0369] 6.NH $_2$ -L-DOPA-L(4F)-Phe(2)-L(4F)-Phe(3)-COOMe 1:将260mg(0.447mmol)化合物11a在10mL的水中的95%TFA中搅拌持续6h。反应的进展通过TLC来监测。在完成反应之后,将溶剂在旋转蒸发仪中蒸发。将产物用己烷、冷的乙醚和水每一种洗涤三次以得到最终肽1。

[0370] 收率:139.1mg (0.257mmol,57.5%)

[0371]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ,500MHz, $\delta_{\text{ppm}}$ ):8.72-8.70[d,1H,NH 4F Phe (2)],8.66-8.64[d,1H,NH 4F Phe (3)],7.88[b,2H,OH DOPA],7.29-7.23,7.12-7.05[m,8H,4F Phe (2)和4F Phe (3)芳族质子],6.7-6.64,6.5-6.47[m,3H,DOPA芳族质子],4.60-4.58[m,1H,CaH 4F Phe (2)],4.53-4.52[m,1H,CaH 4F Phe (3)],3.83[m,1H,CaH DOPA],3.58[s,3H,OMe],3.08-2.75[m,6H,C $\beta$ H 4F Phe (2) 4F Phe (3)&DOPA]。 $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ,125MHz, $\delta_{\text{ppm}}$ ):171.9,170.1,168.5,158.9,158.54,145.2,144.5,131.5,125.2,117.4,115.5,115.4,115.3,11.2,114.5,53.9,52.3,47.5,36.2,33.8,25.8,24.9。 $^{19}\text{F}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ,470MHz, $\delta_{\text{ppm}}$ ):-116.42,-116.71。

[0372] MALDI-TOF (基质: $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸(CHCA)):m/z=[M+H] $^+$ 542.20(计算的),542.57(观察到的),[M+Na] $^+$ 564.19(计算的),564.46(观察到的),[M+K] $^+$ 580.16(计算的),580.32(观察到的)。

[0373] B.合成肽2

[0374] 1. Boc-L-(4F) Phe (2)-D-(4F) Phe (3)-COOMe 8b: 用与化合物8a相同的程序合成该化合物。

[0375]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 7.13-7.10&6.98-6.91 [m, 8H, 芳族质子], 6.51 [b, 1H, NH 4F Phe (3)], 4.91-4.89 [d, 1H, NH 4F Phe (2)], 4.82-4.77 [m, 1H, CaH 4F Phe (3)], 4.33 [m, 1H, CaH 4F Phe (1)], 3.68 [s, 3H, OMe], 3.09-2.93 [m, 4H, CBH 4F Phe (2) 和 4F Phe (3)], 1.38 [s, 9H, Boc]。

[0376] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [M+2H]^+ 464.21$  (计算的), 464.15 (观察到的),  $[M+\text{Na}+2H]^+ 586.18$  (计算的), 586.37,  $[M+K+H]^+ 502.16$  (计算的), 502.25 (观察到的)。

[0377] 2.  $\text{NH}_2$ -L-(4F) Phe (2)-D-(4F) Phe (3)-COOMe 9b: 用与化合物9a相同的程序合成该化合物。

[0378]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 400MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 8.34 [d, 1H, NH 4F Phe (3)], 7.23-7.19&7.12-7.01 [m, 8H, 芳族质子], 4.61-4.51 [m, 1H, CaH 4F Phe (3)], 3.62 [s, 3H, OMe], 3.44-3.41 [m, 1H, CaH 4F Phe (2)], 3.03-2.74 [m, 4H, CBH 4F Phe (2) 和 4F Phe (3)], 2.35 (b, 2H, 游离 $\text{NH}_2$ )。

[0379] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [M+2H]^+ 364.14$  (计算的), 364.41 (观察到的)。

[0380] 3. Fmoc-L-DOPA (ac)-L-(4F) Phe (2)-D-(4F) Phe (3)-COOMe 10b: 用与化合物10a相同的程序合成该化合物。

[0381]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 400MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 8.68-8.55 [d, 1H, NH Phe (2)], 8.15-7.92 [d, 1H, NH 4F Phe (3)], 7.88-7.86, 7.61-6.96 [d&m, 16H, Fmoc芳族质子, 4F Phe (2) 和 4F Phe (3) 芳族质子], 6.75&6.64 [s, 3H, DOPA芳族质子], 5.83 [d, 1H, NH DOPA], 4.62-4.53 [m, 2H, CaH 4F Phe (2) 和 Phe (3)], 4.14-4.02 [m, 3H, CaH DOPA & CBH Fmoc], 3.63 [s, 3H, OMe], 2.76-2.57 [m, 6H, CBH 4F Phe (2), 4F Phe (3) & DOPA], 1.55 [s, 6H,  $2 \times \text{COCH}_3$ ]。

[0382] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [M+\text{Na}]^+ 826.29$  (计算的), 826.15 (观察到的),  $[M+K]^+ 842.27$  (计算的), 841.94 (观察到的)。

[0383] 4.  $\text{NH}_2$ -L-DOPA (ac)-L-(4F) Phe (2)-D-(4F) Phe (3)-COOMe 11b: 用与化合物11a相同的程序合成该化合物。

[0384]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 400MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 8.66-8.64 [b, 1H, NH 4F Phe (2)], 7.95 [b, 1H, NH 4F Phe (3)], 7.30-6.80 [m, 8H, 4F Phe (2) 和 4F Phe (3) 芳族质子], 6.68-6.64, 6.56-6.53 [m, 3H, DOPA芳族质子], 5.57-5.55 [m, 1H, CaH DOPA], 4.56 [m, 1H, CaH 4F Phe (2)], 4.47 [m, 1H, 4F Phe (3)], 3.63 [s, 3H, OMe], 3.05-2.67 [m, 6H, CBH 4F Phe (2), 4F Phe (3) & DOPA], 1.59-1.57 [s, 6H,  $2 \times \text{COCH}_3$ ]。

[0385] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [M+\text{Na}]^+ 604.22$  (计算的), 604.06 (观察到的),  $[M+K]^+ 620.20$  (计算的), 619.88 (观察到的)。

[0386] 5.  $\text{NH}_2$ -L-DOPA-L-(4F) Phe (2)-D-(4F) Phe (3)-COOMe 2: 用与肽1相同的程序合成肽2。

[0387]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 500MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 8.77-8.75 [d, 1H, NH 4F Phe (2)], 8.66-8.64 [d, 1H, NH 4F Phe (3)], 7.80 [b, 2H, OH DOPA], 7.27-7.24, 7.11-7.00 [m, 8H, 4F Phe (2) 和 4F Phe (3) 芳族质子], 6.71-6.60 [m, 3H, DOPA芳族质子], 5.15 [b, 2H,  $\text{NH}_2$ ], 4.62-4.60 [m, 1H, Ca

H 4F Phe (2) ], 4.52-4.49[m, 1H, CaH 4F Phe (3) ], 3.83[m, 1H, CaH DOPA], 3.65[s, 3H, OMe], 3.10-2.73[m, 6H, CBH 4F Phe (2), 4F Phe (3) & DOPA]。<sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 125MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 117.43, 170.42, 147.86, 146.63, 143.75, 143.69, 141.30, 135.47, 128.64, 127.75, 127.23, 127.13, 125.054, 121.81, 120.02, 118.04, 109.44, 108.25, 67.20, 53.02, 52.33, 47.09, 37.91, 31.94, 29.71, 25.89。

[0388] <sup>19</sup>F NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 470MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): -116.43, -116.91。

[0389] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [M+H]^+ 542.20$  (计算的), 542.65 (观察到的),  $[M+Na]^+ 564.19$  (计算的), 564.55 (观察到的),  $[M+K]^+ 580.16$  (计算的), 580.57 (观察到的)。

### [0390] C. 合成肽3

[0391] 1. Boc-D- (4F) Phe-COOH 7b: 如化合物7a合成化合物7b。

[0392] <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 12.59[s, 1H COOH], 7.29-7.26 & 7.12-7.08[m, 4H, 芳族质子], 4.10-3.57[m, 1H, CaH 4F Phe], 3.03-2.77[m, 2H, CBH 4F Phe], 1.32[s, 9H, Boc]。

[0393] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [M+H]^+ 284.12$  (计算的), 284.36 (观察到的),  $[M+Na]^+ 306.11$  (计算的), 306.28 (观察到的)。

[0394] 2. Boc-D- (4F) Phe (2) -L- (4F) Phe (3) -COOMe 8c: 用与化合物8a相同的程序合成该化合物。

[0395] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 7.14-7.09 & 6.99-6.93[m, 8H, 芳族质子], 6.50[b, 1H, NH 4F Phe (3)], 4.88[b, 1H, NH 4F Phe (2)], 4.82-4.77[m, 1H, CaH 4F Phe (3)], 4.33[m, 1H, CaH 4F Phe (2)], 3.68[s, 3H, OMe], 3.09-2.91[m, 4H, CBH 4F Phe (2) 和 4F Phe (3)], 1.38[s, 9H, Boc]。

[0396] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [M+Na]^+ 485.18$  (计算的), 485.88 (观察到的),  $[M+K]^+ 501.16$  (计算的), 501.75 (观察到的)。

[0397] 3. NH<sub>2</sub>-D- (4F) Phe (2) -L- (4F) Phe (3) -COOMe 9c: 用与化合物9a相同的程序合成该化合物。

[0398] <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 8.71-8.67[d, 1H, NH 4F Phe (3)], 7.25-7.21 & 7.12-7.03[m, 8H, 芳族质子], 5.49[b, 2H, NH<sub>2</sub>], 4.56-4.54[m, 1H, CaH 4F Phe (2)], 3.77-3.70[m, 1H, CaH 4F Phe (3)], 3.64[s, 3H, OMe], 3.07-2.57[m, 4H, CBH 4F Phe (2) 和 4F Phe (3)]。

[0399] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [M+2H]^+ 364.14$  (计算的), 364.26 (观察到的)。

[0400] 4. Fmoc-L-DOPA (ac) -D- (4F) Phe (2) -L- (4F) Phe (3) -COOMe 10c: 用与化合物10a相同的程序合成该化合物。

[0401] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 7.79-7.72, 7.51-7.47, 7.42-7.38, 7.33-7.29[d & m, 8H, Fmoc 芳族质子], 6.94-6.88[m, 8H, 4F Phe (2) 和 4F Phe (3) 芳族质子], 6.76-6.61[s & m, 3H, DOPA 芳族质子], 6.54[b, 1H, NH 4F Phe (2)], 6.18[b, 1H, NH 4F Phe (3)], 5.20[b, 1H, NH DOPA], 4.76-4.68[m, 1H, CaH DOPA], 4.67-4.57[m, 1H, , CaH 4F Phe (2)], 4.43-4.35[m, 1H, , CaH 4F Phe (3)], , 4.30-4.21[m, 1H, CaH Fmoc], 4.19-4.01 (b, 2H, CBH Fmoc), 3.62

[s, 3H, OMe], 3.09–2.75 [m, 6H, CBH 4F Phe (2) 4F Phe (3) & DOPA], 1.63 [s, 6H, 2 × COCH<sub>3</sub>].

[0402] MALDI-TOF (基质: α-氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)): m/z = [M+H]<sup>+</sup>804.31 (计算的), 804.74 (观察到的), [M+Na+H]<sup>+</sup>827.30 (计算的), 827.32 (观察到的), [M+K+H]<sup>+</sup>843.27 (计算的), 843.62 (观察到的)。

[0403] 5.NH<sub>2</sub>-L-DOPA (ac)-D-(4F) Phe (2)-L-(4F) Phe (3)-COOMe 11c: 用与化合物11a相同的程序合成该化合物。

[0404] <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz, δ<sub>ppm</sub>): 8.66–8.64 [b, 1H, NH 4F Phe (2)], 7.95 [b, 1H, NH 4F Phe (3)], 7.29–6.81 [m, 8H, 4F Phe (2) 和 4F Phe (3) 芳族质子], 6.68–6.64, 6.54–6.53 [m, 3H, DOPA 芳族质子], 5.57–5.55 [m, 1H, CaH DOPA], 4.60 [m, 1H, CaH 4F Phe (2)], 4.48 [m, 1H, 4F Phe (3)], 3.63 [s, 3H, OMe], 2.88–2.73 [m, 6H, CBH 4F Phe (2), 4F Phe (3) & DOPA], 1.59–1.56 [s, 6H, 2 × COCH<sub>3</sub>].

[0405] MALDI-TOF (基质: α-氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)): m/z = [M+H]<sup>+</sup>582.23 (计算的), 581.93 (观察到的), [M+Na]<sup>+</sup>604.22 (计算的), 604.01 (观察到的), [M+K]<sup>+</sup>620.20 (计算的), 619.85 (观察到的)。

[0406] 6.NH<sub>2</sub>-L-DOPA-D-(4F) Phe (2)-L-(4F) Phe (3)-COOMe 3: 用与肽1相同的程序合成肽3。

[0407] <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 500MHz, δ<sub>ppm</sub>): 8.72–8.71 [d, 1H, NH 4F Phe (2)], 8.65–8.64 [d, 1H, NH 4F Phe (3)], 7.89 [b, 2H, OH DOPA], 7.28–7.23, 7.12–7.06 [m, 8H, 4F Phe (2) 和 4F Phe (3) 芳族质子], 6.67–6.64, 6.49–6.47 [m, 3H, DOPA 芳族质子], 4.61–4.50 [m, 1H, CaH 4F Phe (2) & Phe (3)], 3.85–3.80 [m, 1H, CaH DOPA], 3.58 [s, 3H, OMe], 3.05–2.72 [m, 6H, CBH 4F Phe (2) 4F Phe (3) & DOPA]。 <sup>13</sup>C NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 125MHz, δ<sub>ppm</sub>): 171.9, 170.9, 168.6, 162.5, 160.6, 158.5, 158.23, 145.7, 145.1, 133.8, 133.7, 133.5, 131.5, 125.8, 120.7, 117.3, 116.1, 115.5, 115.4, 115.3, 115.2, 54.3, 53.9, 52.4, 46.2, 37.3, 37.0, 36.2, 26.7, 25.3, 24.7。

[0408] <sup>19</sup>F NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 470MHz, δ<sub>ppm</sub>): -116.31, -116.53。

[0409] MALDI-TOF (基质: α-氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)): m/z = [M+H]<sup>+</sup>542.20 (计算的), 542.51 (观察到的), [M+Na]<sup>+</sup>564.19 (计算的), 564.53 (观察到的), [M+K]<sup>+</sup>580.16 (计算的), 580.43 (观察到的)。

#### [0410] D. 合成肽4

[0411] 1. Boc-D-(4F) Phe (2)-D-(4F) Phe (3)-COOMe 8d: 用与化合物8a相同的程序合成该化合物。

[0412] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz, δ<sub>ppm</sub>): 7.18–7.15 & 7.01–6.925 [m, 8H, 芳族质子], 6.25–6.23 [d, 1H, NH 4F Phe (3)], 4.93 [b, 1H, NH 4F Phe (2)], 4.77–4.76 [m, 1H, CaH 4F Phe (2)], 4.30–4.28 [m, 1H, CaH 4F Phe (3)], 3.7 [s, 3H, OMe], 3.10–3.00 [m, 4H, CBH 4F Phe (2) 和 4F Phe (3)], 1.40 [s, 9H, Boc]。

[0413] MALDI-TOF (基质: α-氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)): m/z = [M+Na+H]<sup>+</sup>486.18 (计算的), 485.93 (观察到的), [M+K+H]<sup>+</sup>502.16 (计算的), 502.00 (观察到的)。

[0414] 2.NH<sub>2</sub>-D-(4F) Phe (2)-D-(4F) Phe (3)-COOMe 9d: 用与化合物9a相同的程序合成该化合物。



[0415]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 400MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 8.36–8.34 [d, 1H, NH 4F Phe (3)], 8.02 [b, 1H, NH 4F Phe (2)], 7.22–7.17 & 7.11–7.01 [m, 8H, 芳族质子], 4.55–4.50 [m, 1H, CaH 4F Phe (3)], 4.08–3.92 [m, 1H, CaH 4F Phe (2)], 3.60 [s, 3H, OMe], 3.04–2.84 [m, 4H, CBH 4F Phe (2) 和 4F Phe (3)]。

[0416] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [M+2H]^+ 364.14$  (计算的), 364.29 (观察到的),  $[M+Na+H]^+ 486.13$  (计算的), 486.33 (观察到的)。

[0417] 3.Fmoc-L-DOPA (ac)-D- (4F) Phe (2)-D- (4F) Phe (3)-COOMe 10d: 用与化合物10a相同的程序合成该化合物。

[0418]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 7.77–7.75, 7.55–7.53, 7.42–7.40 [d & m, 8H, Fmoc 芳族质子], 6.94–6.55 [m, 8H, 4F Phe (2) 和 4F Phe (3) 芳族质子], 6.71–6.52 [m, 3H, DOPA 芳族质子], 6.52–6.45 [b, 1H, NH 4F Phe (2)], 6.15 [b, 1H, NH 4F Phe (3)], 5.31 [b, 1H, NH DOPA], 4.73–4.65 [m, 1H, CaH DOPA], 4.64–4.56 [m, CaH 4F Phe (2)], 4.51–4.42 [m, 1H, CaH 4F Phe (3)], 4.24–4.11 [m, 1H, CaH Fmoc], 4.19 (b, 2H, CBH Fmoc), 3.61 [s, 3H, OMe], 3.08–2.72 [m, 6H, CBH 4F Phe (2) 4F Phe (3) & DOPA], 1.62 [s, 6H,  $2 \times \text{COCH}_3$ ]。

[0419] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [M+Na+2H]^+ 828.30$  (计算的), 828.03 (观察到的),  $[M+K+2H]^+ 844.27$  (计算的), 844.12 (观察到的)。

[0420] 4.NH<sub>2</sub>-L-DOPA (ac)-D- (4F) Phe (2)-D- (4F) Phe (3)-COOMe 11d: 用与化合物11a相同的程序合成该化合物。

[0421]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 400MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 8.58–8.53 [d, 1H, NH 4F Phe (2)], 8.12 [d, 1H, NH 4F Phe (3)], 7.31–7.09 [m, 8H, 4F Phe (2) 和 4F Phe (3) 芳族质子], 6.69–6.68, 6.61–6.60 [m, 3H, DOPA 芳族质子], 5.63–5.61 [m, 1H, CaH DOPA], 4.61 [m, 1H, CaH 4F Phe (2)], 4.52 [m, 1H, 4F Phe (3)], 3.64 [s, 3H, OMe], 3.15–2.65 [m, 6H, CBH 4F Phe (2) 4F Phe (3) & DOPA], 1.54 [d, 6H,  $2 \times \text{COCH}_3$ ]。

[0422] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [M+Na]^+ 604.22$  (计算的), 604.23 (观察到的),  $[M+K]^+ 620.20$  (计算的), 620.12 (观察到的)。

[0423] 5.NH<sub>2</sub>-L-DOPA-D- (4F) Phe (2)-D- (4F) Phe (3)-COOMe 4: 用与肽1相同的程序合成肽4。

[0424]  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 500MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 8.80–8.77 [d, 1H, NH 4F Phe (2)], 7.95 [b, 2H, OH DOPA], 7.31–7.20, 7.12–7.03 [m, 8H, 4F Phe (2) 和 4F Phe (3) 芳族质子], 6.59–6.57, 6.22–6.20 [m, 3H, DOPA 芳族质子], 5.58 [b, 2H, 游离NH<sub>2</sub>], 4.75–4.62 [m, 1H, CaH 4F Phe (2)], 4.51–4.45 [m, 1H, CaH 4F Phe (3)], 3.91–3.82 [m, 1H, CaH DOPA], 3.62 [s, 3H, OMe], 3.08–2.62 [m, 6H, CBH 4F Phe (2), 4F Phe (3) & DOPA]。 $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 125MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 172.01, 171.20, 168.27, 162.77, 158.59, 158.27, 157.09, 145.65, 145.02, 133.58, 133.71, 131.46, 131.45, 131.37, 125.74, 120.65, 117.37, 115.95, 115.63, 115.42, 115.31, 115.09, 54.14, 52.44, 47.97, 33.80, 25.78, 24.92。 $^{19}\text{F}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ , 470MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): -116.08, -116.42。

[0425] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [M+H]^+ 542.20$  (计算的), 542.85 (观察到的),  $[M+Na]^+ 564.19$  (计算的), 564.55 (观察到的),  $[M+K]^+ 580.16$  (计算的), 580.40 (观察到的)。

[0426] E. 合成肽5

[0427] 1. Boc-L- (F5) Phe (2) -L- (F5) Phe (3) -COOMe 8e:

[0428] 我们已经购买了 Boc-L- (F5) Phe-COOH。我们首先通过 TFA/DCM 的处理使 Boc 基团脱保护,然后蒸发全部溶剂并且 NH<sub>2</sub>-Phe (F5) -COOH 的酯化通过用亚硫酸氯和甲醇处理来进行。然后通过将 Boc-L- (F5) Phe-COOH 与 NH<sub>2</sub>-L- (F5) Phe-COOMe 偶联来合成化合物 8e,如关于化合物 8a 所描述。

[0429] <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz,  $\delta_{ppm}$ ): 6.52 [b, 1H, NH Phe (3)], 4.93 [b, 1H, NH 4F Phe (2)], 4.92-4.85 [m, 1H, CaH Phe (3)], 4.42-4.29 [m, 1H, CaH Phe (2)], 3.81 [s, 3H, OMe], 3.42-2.95 [m, 4H, CBH Phe (2) 和 Phe (3)], 1.44 [s, 9H, Boc]。

[0430] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)): m/z = [M+Na+H]<sup>+</sup>630.11 (计算的), 630.08 (观察到的), [M+K+H]<sup>+</sup>646.08 (计算的), 646.13 (观察到的)。

[0431] 2. NH<sub>2</sub>-L- (F5) Phe (2) -L- (F5) Phe (3) -COOMe 9e:

[0432] 如关于化合物 9a 描述的制备化合物 9e。

[0433] <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz,  $\delta_{ppm}$ ): 8.93-8.90 [d, 1H, NH Phe (3)], 8.40 [b, 1H, 游离 NH<sub>2</sub>], 4.72-4.70 [m, 1H, CaH Phe (3)], 3.90 [m, 1H, CaH Phe (2)], 3.61 [s, 3H, OMe], 3.17-2.99 [m, 4H, CBH Phe (2) 和 Phe (3)]。

[0434] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)): m/z = [M+Na+H]<sup>+</sup>530.05 (计算的), 530.16 (观察到的), [M+K+H]<sup>+</sup>546.03 (计算的), 546.53 (观察到的)。

[0435] 3. Fmoc-DOPA (ac) -L- (F5) Phe (2) -L- (F5) Phe (3) -COOMe 10e:

[0436] 如关于化合物 10a 描述的制备化合物 10e。

[0437] <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz,  $\delta_{ppm}$ ): 8.75-8.72 [d, 1H, NH Phe (2)], 8.36-8.34 [b, 1H, NH Phe (3)], 7.88-7.26 [m, 8H, Fmoc 芳族质子], 6.79-6.67 [m, 3H, DOPA 芳族质子], 5.57-5.55 [b, 1H, NH DOPA], 4.66-4.63 [m, 2H, CBH Fmoc], 4.14-4.09 [m, 3H, CaH DOPA, CaH Phe (2), CaH Phe (3)], 3.62 [s, 3H, OMe], 3.05-2.90 [m, 6H, CBH Phe (2), Phe (3) & DOPA], 1.56 [s, 6H, 2  $\times$  COCH<sub>3</sub>]。

[0438] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)): m/z = [M+Na]<sup>+</sup>970.21 (计算的), 970.22 (观察到的), [M+K]<sup>+</sup>986.19 (计算的), 986.04 (观察到的)。

[0439] 4. NH<sub>2</sub>-DOPA (ac) -L- (F5) Phe (2) -L- (F5) Phe (3) -COOMe 11e:

[0440] 如关于化合物 11a 描述的制备化合物 11e。

[0441] <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz,  $\delta_{ppm}$ ): 8.73-8.71 [d, 1H, NH Phe (2)], 6.69-6.55 [m, 3H, DOPA 芳族质子], 5.57-5.55 [d, 1H, NH Phe (3)], 4.64-6.63 [m, 1H, CaH DOPA], 4.54 [m, 1H, CaH Phe (2)], 4.13-4.08 [m, 1H, CaH Phe (3)], 3.61 [s, 3H, OMe], 3.15-2.67 [m, 6H, CBH Phe (2), Phe (3) & DOPA], 1.60 [s, 6H, 2  $\times$  COCH<sub>3</sub>]。

[0442] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)): m/z = [M+Na]<sup>+</sup>748.15 (计算的), 748.23 (观察到的), [M+K]<sup>+</sup>764.12 (计算的), 764.06 (观察到的)。

[0443] 5. NH<sub>2</sub>-DOPA-L- (F5) Phe (2) -L- (F5) Phe (3) -COOMe 5:

[0444] 如关于化合物 1 描述的制备化合物 5。

[0445] <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz,  $\delta_{ppm}$ ): 9.46 [b, 1H, NH Phe (2)], 9.25 [b, 1H, NH Phe (2)], 8.39 [b, 2H, 游离 NH<sub>2</sub>], 6.68-6.54 [m, 3H, DOPA 芳族质子], 4.69-4.65 [m, 2H, CaH Phe (1) & Phe (2)], 4.55 [m, 1H, CaH DOPA], 3.61 [s, 3H, OMe], 3.01-2.95 [m, 6H, CBH Phe (2) Phe (2) &

DOPA]。  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 100MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 193.6, 158.5, 158.2, 144.3, 140.8, 139.5, 133.7, 129.9, 128.5, 127.8, 124.4, 53.8, 44.2, 33.8, 30.5, 29.4, 22.6, 17.6。  $^{19}\text{F}$  (DMSO- $d_6$ , 470MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): -141.7, -142.4, -157.6, -163.1, -163.4。

[0446] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [\text{M}+\text{Na}]^+ 748.15$  (计算的), 748.23 (观察到的),  $[\text{M}+\text{K}]^+ 764.12$  (计算的), 764.06 (观察到的)。

[0447] F. 合成肽6

[0448] 1. Boc-L-DOPA-COOH:

[0449] 如化合物7a合成该化合物。

[0450]  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 9.13 (b, 2H,  $2 \times \text{OH}$ ), 7.35-7.33 [d, 1H, NH DOPA], 7.03-6.88 [m, 3H, DOPA芳族质子], 4.45-4.37 [m, 1H, CaH DOPA], 3.22-2.92 [m, 1H, C $\beta$ H DOPA], 1.75 [s, 9H, OMe]。

[0451] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [\text{M}+\text{Na}]^+ 320.11$  (计算的), 320.51 (观察到的),  $[\text{M}+\text{K}]^+ 336.08$  (计算的), 336.29 (观察到的)。

[0452] 2. Boc-L-DOPA-L- (4F) Phe-COOMe:

[0453] 如化合物8a合成该化合物。

[0454]  $^1\text{H}$  NMR (CDCl $_3$ , 400MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 7.26-7.24 [d, 1H, NH Phe], 6.90-6.50 [m, 7H, 全部芳族质子], 5.24 [b, 1H, NH DOPA], 4.82-4.77 [m, 1H, CaH DOPA], 4.36 [b, 1H, CaH Phe], 3.64 [s, 3H, OMe], 2.99-2.87 [m, 4H, C $\beta$ H DOPA&Phe], 1.42 [s, 9H, Boc]。

[0455] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [\text{M}+\text{Na}+\text{H}]^+ 500.18$  (计算的), 500.02 (观察到的),  $[\text{M}+\text{K}+\text{H}]^+ 516.16$  (计算的), 516.24 (观察到的)。

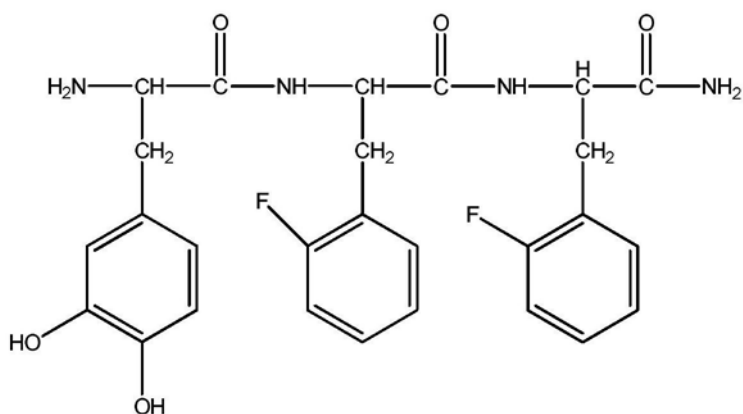
[0456] 3. NH $_2$ -L-DOPA-L- (4F) Phe-COOMe 6:

[0457] 如关于9a描述的合成此化合物。

[0458]  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 400MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 8.92&8.81 [s, 2H,  $2 \times \text{OH}$ ], 8.02 [b, 2H, 游离NH $_2$ ], 7.27-7.09 [m, 4H, 芳族质子], 6.67-6.48 [m, 3H, 芳族质子DOPA], 4.58-4.52 [m, 1H, CaH DOPA], 3.90-3.86 [b, 1H, CaH Phe], 3.61 [s, 3H, OMe], 3.08-2.67 [m, 4H, C $\beta$ H DOPA&Phe]。  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 100MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): 171.4, 168.7, 162.7, 160.4, 158.5, 145.6, 145.0, 133.3, 133.2, 131.4, 125.6, 120.6, 117.2, 115.9, 115.5, 115.3, 54.1, 53.9, 52.4, 41.0, 36.8, 36.2, 23.6。  $^{19}\text{F}$  NMR (DMSO- $d_6$ , 470MHz,  $\delta_{\text{ppm}}$ ): - (116.25-116.29)。

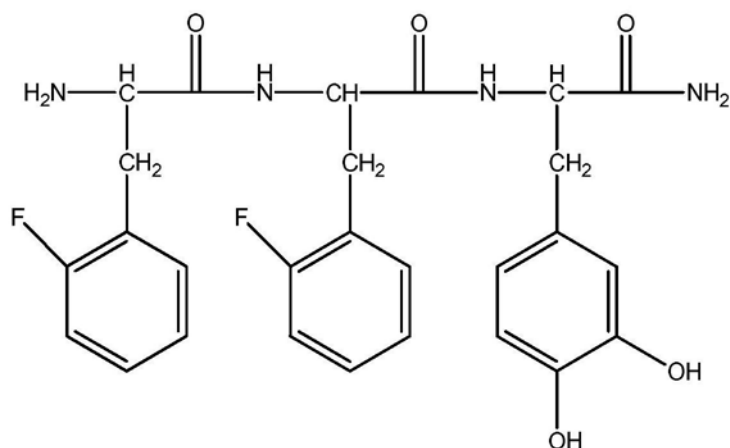
[0459] MALDI-TOF (基质:  $\alpha$ -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA)):  $m/z = [\text{M}+\text{H}]^+ 377.15$  (计算的), 377.25 (观察到的),  $[\text{M}+\text{Na}]^+ 399.13$  (计算的), 399.24 (观察到的)。

[0460] 另两个示例性肽衍生物已经利用固相或溶液相合成来合成。使用HPLC和MS分光仪确定肽的纯度和鉴定。



肽 7

[0461]



肽 8

[0462] 基底

[0463] 以下基底在研究的过程中包覆有肽:硅片、具有100nm钛层的硅片、400目Copper-formvar®/碳网。

[0464] 表面改性

[0465] 在乙醇中,对10x10 mm Ti表面进行声处理5分钟,用TDW洗涤并且在氮气下干燥。将洁净表面浸在肽溶液(0.5mg/mL,于甲醇中)中并且在室温放置过夜。然后,将其用甲醇充分冲洗并且在氮气下干燥。

[0466] 将期望的基底切割成1cm<sup>2</sup>正方形并且通过声处理(在丙酮中5min并且在异丙醇中5min)来清洁。然后,将基底沉浸于0.1mg/ml的浓度的肽中并且在室温温育过夜。

[0467] 温育之后,将基底通过浸在水中来冲洗,干燥并且在析象器中储存直到使用。

[0468] 接触角测量

[0469] 使用Theta Lite光学张力计(Attension,Finland)实施接触角测量。每个实验测量由三次重复组成,并且将报告的角度求平均值。

[0470] AFM分析

[0471] 将新裂开的云母表面浸在甲醇中0.5mg/mL的浓度的不同肽溶液中过夜。然后,将表面用新鲜的甲醇洗涤并且在N<sub>2</sub>下干燥。在AC模式中用具有弹簧常数3N/m的Si<sub>3</sub>N<sub>2</sub>尖端在JPK仪器(NanoWizard 3)中采集AFM图像。

[0472] ATR-FTIR

[0473] 使用具有Ge-ATR布置 (Harrick Scientific's VariGATR) 的FT-IR (Thermo scientific, Model Nicolet 6700) 记录ATR光谱。对于所有表面, 使用350N的作用力, 以 $4\text{cm}^{-1}$ 分辨率, 用3000扫描平均信号和 $65^\circ$ 的入射角收集光谱。

[0474] QCM-D

[0475] QCM-D (Q-sense, Biolin Scientific) 用于Ti表面上肽粘附的研究。测量在流动模块E1系统中执行。具有5MHz的基波共振频率的Ti传感器也购自Q-sense并且如供应的被使用。在每个实验之前, 将Ti传感器用Oxygen/Plasma (Atto, Diener Electronic) 清洁, 随后用2% SDS和TDW冲洗并且最后在 $\text{N}_2$ 下干燥。使用以推动模式操作的数字蠕动泵 (IsmaTec Peristaltic Pump, IDEX) 在流过条件下进行所有QCM-D实验。将研究的溶液以 $0.1\text{mL}/\text{min}$ 的速率注射至传感器晶体室。有机溶剂兼容的管和O形环用于流动系统。将肽溶解在MeOH中至 $0.5\text{mg}/\text{mL}$ 的浓度。

[0476] 数据用Sauerbrey模型来拟合。根据此模型, 粘附层的质量被计算为

$$[0477] \quad \Delta m = -\frac{C \cdot \Delta f}{n}$$

[0478] 其中对于5MHz石英晶体,  $C=17.7\text{ng Hz}^{-1}$ , 并且 $n=1, 3, 5, 7, 9, 11, 13$ 谐波数。

[0479] X射线光电子能谱学 (XPS)

[0480] 使用Kratos AXIS UltraX射线光电子能谱仪 (Kratos Analytical Ltd., Manchester, UK) 进行X射线光电子能谱学 (XPS) 测量。使用 $\text{Al-K}\alpha$ 单色光X射线源 ( $1, 486.7\text{eV}$ ) 获得光谱。样品出射角是 $90^\circ$  (即, 垂直于分析仪)。分析室中真空压力维持至 $2 \cdot 10^{-9}$ 托。对于 $\text{F}1s$ 、 $0\text{ }1s$ 、 $\text{C }1s$ 和 $\text{Ti }2$ 峰使用通能 $20\text{eV}$ 和 $0.1$ 步长收集高分辨率XPS光谱。使用Kratos Vision数据简化处理软件 (Kratos Analytical Ltd.) 和Casa XPS (Casa Software Ltd.) 进行数据分析。

[0481] 通过XPS评估层厚度

[0482] 利用XPS测量方法, 计算组装的层的厚度是可能的。我们已经利用从不同样品深度出现的光电子的标准衰减关系来这样做了。厚度计算基于Briggs等人的方法和其他。对于Au基底, 覆盖厚度 $d$  (nm) 表示为:

$$[0483] \quad d = \lambda_o \sin \theta \ln \left( \frac{N_s \lambda_s I_o}{N_o \lambda_o I_s} + 1 \right)$$

[0484] 其中 $I_s$ 和 $I_o$ 分别是来自基底和覆盖层的峰的强度, 基底是 $\text{Ti }2p$ 信号, 并且层是 $\text{C}1s$ 、 $0\text{ }1s$ 、 $\text{N }1s$ 和 $\text{F}1s$ 峰的强度的总和,  $\theta$ 是出射角 (在我们的实例中 $\sin \theta = 1$ ), 并且 $N_s$ 和 $N_o$ 是体积密度。基底 ( $\lambda_s$ ) 的和覆盖层 ( $\lambda_o$ ) 的无弹性平均自由程 (IMFP) 分别假设为 $2.18\text{nm}$ 和 $3.3\text{nm}$ 。使用S. Tougaard QUASES-IMFP-TPP2M软件 (<http://www.quases.com>) 计算。无弹性电子平均自由程从Tanuma、Powell和Penn算法 [Penn, 1994] 计算。

[0485] 椭圆光度法

[0486] 使用 $\alpha$ -SE椭圆偏振光谱仪 (J.A. Woollam, Lincoln, Nebraska, USA) 测量基于肽的涂层的厚度。在从 $380$ 至 $900\text{nm}$ 波长, 在 $70^\circ$ 的入射角进行测量。基底的光学特性使用具有 $50\text{nm Ti}$ 的标准Si来拟合。层的厚度和折射率根据Cauchy模型来拟合。Cauchy方程的系数最初被固定用于有机层 ( $A_n = 1.45$ ,  $B_n = 0.01$ 且 $C_n = 0$ ), 并且允许角度偏移。然后, 允许参数拟

合以确定更精确的值。

#### [0487] 蛋白质吸附

[0488] 将50 $\mu$ L的BSA、溶菌酶和纤维蛋白原(150 $\mu$ M于PBS中)的单一蛋白质溶液用移液器吸至培养皿中的基底上。将板置于潮湿的培养箱中在37 $^{\circ}$ C持续2小时。然后将基底用PBS(pH=7.43, 10mM NaCl, 150mM)冲洗3次, 并且转移进入含有1mL的2% (w/w) SDS的eppendorf管中。将样品振摇60分钟并且在室温声处理20分钟以分离吸附的蛋白质。根据制造商的说明书利用互不干扰蛋白质测定(Calbiochem, USA), 在480nm使用酶标仪(Synergy 2, BioTek)确定SDS溶液中蛋白质浓度。所有测量以三份进行并且求平均值。

[0489] 为确定包覆的表面是否防止蛋白质吸附, 用荧光标记的蛋白质(FITC-BSA)温育检查的基底中的每个持续1小时。温育之后, 将基底彻底冲洗以洗涤进入的蛋白质, 并且使用荧光显微镜记录荧光信号。

#### [0490] 生物膜生长

[0491] 将铜绿假单胞菌和大肠杆菌在37 $^{\circ}$ C于搅拌下(120rpm)在宽松盖帽的管中, 分别在TCB培养基(Fluka)和LB培养基(BD Difco)中生长过夜至稳定期。然后, 将培养物用TSB稀释至10<sup>8</sup>CFU/mL并且将3mL的每个培养物转移至培养皿。将基底水平放置于板中并且在37 $^{\circ}$ C温育9小时用于铜绿假单胞菌形成生物膜以及温育96小时用于大肠杆菌形成生物膜。每4.5小时将培养基用新鲜的培养基替换以保证营养物的充分供应。

[0492] 将BL21大肠杆菌菌株在LB肉汤中生长至稳态。将检查的表面浸在细菌生长培养物中。1小时的温育之后, 将基底用无菌PBS缓冲液彻底冲洗(至少20mL用于1cm<sup>2</sup>表面), 以便除去非粘附细胞, 并且将基底置于含有清洁缓冲液的试验管中。为了确定吸附至基底上的细菌的数目, 将试验管置于超声浴中持续5min。然后将缓冲液稀释x10和x100, 在LB琼脂板上涂布并且在37 $^{\circ}$ C温育过夜。计数细胞形成单位(CFU)/菌落的数目。

#### [0493] 结晶紫测定

[0494] 温育之后, 将基底用去离子水轻轻冲洗3次, 并且用0.2%结晶紫染色15分钟。将染色的样品用自来水洗涤并且置于空气中干燥。最后将结合的染料用30%醋酸洗脱。在590nm于酶标仪(Synergy 2, BioTek)中记录吸光度值。所有测量以三份测量并且求平均值。

#### [0495] 结果

[0496] 将研究的肽1至6的分子结构在下面呈现。我们选择探索肽的两个变种: 一个在苯环的每个上仅含有一个氟原子并且另一个含有五个氟原子。此外, 我们研究具有L氨基酸或者D氨基酸的肽, 因为在天然系统中, L氨基酸更丰富并且D氨基酸抵抗常见的蛋白酶并且可以呈现另外的稳定性。肽的第三种氨基酸是3,4-二羟基-L-苯丙氨酸(DOPA)(图2)。

[0497] 为使基底(比如, 金、硅、钛、玻璃或聚苯乙烯)包覆有肽, 我们通过在乙醇中声处理、用水洗涤和在氮气下干燥清洁裸露基底(1x1 cm<sup>2</sup>)。我们在甲醇中的0.5mg/mL肽中温育基底若干小时(3-10小时)。我们选择肽的此浓度, 因为它形成在多种表征描述方法中给出良好信号的实质涂层。在温育之后, 我们用甲醇彻底洗涤基底并且在氮气下干燥基底。由于肽的疏水性部分, 尽管水的高极性, 但水不可以被用作溶剂系统。我们使用甲醇作为溶剂, 因为甲醇将肽溶解完全, 并且同时允许肽吸附基底。因为甲醇是有毒溶剂, 所以我们也检查具有不同极性的其他溶剂。当我们使用具有类似甲醇的极性的极性的溶剂, 诸如丙酮、乙醇和异丙醇时, 基于肽的涂层以与甲醇溶剂系统相似的方式自组装(图3和4)。但是, 在具有高

极性的溶剂,诸如二甲基亚砷(DMSO)和1,1,1,3,3,3-六氟-2-丙醇(HFP)中,肽溶解但不粘附至基底(图3)。

[0498] 为了确定肽事实上是否在基底上产生“聚四氟乙烯样(Teflon-like)”层和是否提高基底的疏水性,我们测量肽的接触角。如我们假设的,改性的表面(即,金、硅、肽和不锈钢)展示接触角的提高,表明基底疏水性的提高(图5)。包覆有肽1的钛基底的接触角从 $43.2^{\circ}$ 提高至 $68.1^{\circ}$ 。同样地,肽2、3、4、5和6遵循同样的趋势(图6)。我们还发现角度大小和肽溶液的浓度之间的关系,随着肽浓度提高,接触角越大(图7)。

[0499] 为了表征改性的表面的形态学,我们对包覆有不同肽的云母和Ti表面执行AFM形貌学分析(图8)。包覆的云母基底的AFM分析表明肽装饰表面。具有 $\sim 0.25\text{--}0.50\text{nm}$ (肽1)、 $\sim 0.20\text{--}0.48$ (肽2)、 $\sim 0.20\text{--}2.30\text{nm}$ (肽3)、 $\sim 0.32\text{--}0.65\text{nm}$ (肽4)、 $\sim 1.00\text{--}5.00\text{nm}$ (肽5)和 $\sim 1.02\text{--}3.65\text{nm}$ (肽6)的高度的球形样聚集体出现在包覆的基底上。由于钛表面的粗糙度( $R_q \sim 0.866\text{nm}$ ),我们不检测表面上的任何形态变化(图9)。

[0500] 我们还使用光谱仪研究肽是否事实上存在于基底上。信息的IR频率范围是 $3500\text{--}3200\text{cm}^{-1}$ ,因为其对应于N-H伸缩振动并且可以表明基底上形成肽膜。对于用肽1改性的钛表面,N-H伸缩频率在 $3330\text{cm}^{-1}$ 出现。此IR频率表明肽与基底的结合(图10)。同样地,对于用另外研究的肽改性的表面,N-H伸缩带出现于 $3305\text{cm}^{-1}$ 至 $3322\text{cm}^{-1}$ 之间(图11和12)。另一个信息的区域是C-F伸缩带的特征。肽1在 $1315\text{cm}^{-1}$ 、 $1245\text{cm}^{-1}$ 和 $1093\text{cm}^{-1}$ 处示出峰,同时其他肽的光谱具有 $1310\text{--}1000\text{cm}^{-1}$ 之间的峰(图11和12)。

[0501]  $1800\text{cm}^{-1}$ 和 $1500\text{cm}^{-1}$ 之间的IR区与酰胺I的伸缩带有关并且可以表明肽的二级结构。包覆有肽1的基底的ATR-FTIR光谱在 $1685\text{cm}^{-1}$ 和 $1629\text{cm}^{-1}$ 处出现,表明抗平行 $\beta$ 折叠二级结构。对于肽2、3、4和5,酰胺I峰分别出现在( $1687\text{cm}^{-1}$ ,  $1616\text{cm}^{-1}$ )、( $1687\text{cm}^{-1}$ ,  $1612\text{cm}^{-1}$ )、( $1686\text{cm}^{-1}$ ,  $1619\text{cm}^{-1}$ )和( $1679\text{cm}^{-1}$ ,  $1605\text{cm}^{-1}$ ),表明基底上相同类型的肽二级结构(图11)。肽6的IR光谱具有在 $1620\text{cm}^{-1}$ 处的峰(图12),但是较高的峰位移至 $1696\text{cm}^{-1}$ 并且另一个峰在 $1655\text{cm}^{-1}$ 处出现,表明 $\alpha$ 螺旋结构。这些可能意味在基底上肽6的较少的有组织的组装。这可以通过光谱的峰的强度和信噪比来支持。当与其他光谱比较时,光谱是不同的,并且钛峰中的某些似乎出现。

[0502] 使用具有耗散模式(QCM-D)的石英晶体微量天平,我们研究了将肽实时粘附至钛基底。将溶解在MeOH中的肽的每个注射入容纳Ti包覆的传感器的流动池。注射肽1导致频率(f)和耗散(D)二者的变化,这表明肽与钛表面结合。在用MeOH洗涤之后,我们仅观察到频率和耗散的小的变化;这表明基底上稳定膜的形成(图13)。肽2、3和4展示了相同的趋势,同时从肽5-6粘附至传感器获得的位移是较低的(图14)。这些差异表明粘附过程受氟原子的存在的影响。频率的变化是质量依赖性的,因此在肽6的实例中具有较小的变化。

[0503]		肽 1	肽 2	肽 3	肽 4	肽 5	肽 6
	厚度( $\text{\AA}$ )	$9.11 \pm 0.05$	$7.3 \pm 0.3$	$5.4 \pm 0.5$	$5.6 \pm 0.3$	$3.4 \pm 0.5$	$1.7 \pm 0.3$
	质量/面积 ( $\text{ng}/\text{cm}^2$ )	$72.1 \pm 0.4$	$57 \pm 3$	$43 \pm 4$	$45 \pm 2$	$27 \pm 3$	$13 \pm 2$
	密度 ( $\text{Kg}/\text{m}^3$ )	$767 \pm 4$	$824 \pm 13$	$760 \pm 37$	$769 \pm 30$	$717 \pm 44$	$805 \pm 15$

[0504] 表1:根据Sauerbrey模型,肽1-6的定量分析。

[0505] 应该注意的是QCM-D实验持续40分钟并且因此仅测量包覆过程的开始。利用X射线

光电子能谱分析,我们能够表征经历用肽延长温育以确保Ti基底的完全改性的表面。与裸露的Ti相比,从改性的基底获得的信号表明碳、氮和氟的存在(图15和16)。这些信号表明肽在表面上沉积。对于肽1-6,通过XPS评估的肽层的平均厚度分别是 $3.9 \pm 0.1 \text{ nm}$ ,  $4.3 \pm 0.1 \text{ nm}$ ,  $3.9 \pm 0.1 \text{ nm}$ ,  $4.41 \pm 0.03 \text{ nm}$ ,  $4.2 \pm 0.1 \text{ nm}$ 和 $3.82 \pm 0.04 \text{ nm}$ 。

[0506] 我们还使用椭圆光度法确定涂层的厚度。通过将测量结果与Cauchy膜模型拟合, Cauchy膜模型适合有机涂层,我们分别评估了肽1-6的 $3.41 \pm 0.05 \text{ nm}$ ,  $3.46 \pm 0.04$ ,  $3.48 \pm 0.03 \text{ nm}$ ,  $3.36 \pm 0.05 \text{ nm}$ ,  $5.2 \pm 0.1 \text{ nm}$ 和 $3.66 \pm 0.04 \text{ nm}$ 的厚度。这些结果与通过XPS分析获得的结果一致。

[0507] 生物结垢的过程通过将以多糖或蛋白质的形式的生物有机分子吸附至基底上来开始。这些生物有机分子介导有机体的随后附着。因此,我们研究基于肽的涂层对蛋白质吸附的抗性。将裸露的Ti表面和包覆的Ti表面在 $37^\circ\text{C}$ 在 $150 \mu\text{M}$ 的浓度下的蛋白溶液(牛血清白蛋白(BSA),纤维蛋白原或溶菌酶)中温育2小时。为确定表面上蛋白质的吸附的量,我们使用互不干扰蛋白测定™试剂盒。肽包覆的基底上的BSA和溶菌酶的吸附的量是可忽略的并且在试剂盒的检测限以下(图17)。

[0508] 为评估表面的细菌附着,将裸露的基底和肽包覆的基底分别在铜绿假单胞菌和大肠杆菌的接种物中温育9和96小时。这些温育时间允许由不同细菌菌株形成生物膜。在温育之后,我们洗涤并且干燥基底,并且用2% (w/w) 结晶紫将其染色。结晶紫染料是细菌的革兰氏染色的部分并且将细菌染成紫色。使用光学显微镜,我们观察到裸露的钛表面上厚且密的紫色层,这表明基底的厚的细菌覆盖物,同时在包覆的钛上我们仅检测到稀疏的细菌(图18)。为了将此结果定量,我们使用30%乙酸从细菌提取结晶紫染色剂并且测量其吸光度。结晶紫的吸光度与附着至表面的细菌的数目成比例。对于用铜绿假单胞菌温育的表面,当与裸露的基底相比时,我们观察到在包覆的基底上结晶紫的量的93%的降低(图18)。对于用大肠杆菌温育的表面,检测到结晶紫的量的72%的降低(图18)。

[0509] 包覆的基底的形态学表征

[0510] 通过浸涂制备肽膜。除非另外表明的,所有实验用 $0.01 \text{ mg/mL}$ 的肽浓度来实施。将薄膜沉积在硅片、包覆有 $100 \text{ nm}$ 的钛层的硅片或者400目copper-formvar®/碳网上。使用电子显微镜,鉴定薄膜中的折叠和缺损,表明了基底上形成薄膜(图19)。

[0511] 吸附至肽包覆的表面的蛋白质

[0512] 为了确定基于肽的涂层是否确实抵抗蛋白质吸附,将改性的表面用FITC-BSA(一种荧光标记的蛋白质)温育。在彻底洗涤之后,使用荧光显微法分析至表面的吸附蛋白质的存在。当与来自改性的表面的较弱的信号相比时,来自此实验的结果清楚地示出了强的荧光信号,表明裸露的硅基底上大量的蛋白吸附。

[0513] 肽包覆的表面的防垢活性

[0514] 为确定肽的防垢活性,将改性的硅表面置于BL21大肠杆菌细菌培养基中。然后冲洗表面,在缓冲液中声处理并且将缓冲液涂布在琼脂板上并且培养。计数菌落并且计算菌落形成单位(CFU)的数目。

[0515] 如表1中表明的,当与裸露的硅表面相比时,改性的表面上CFU的数目降低两个数量级。

[0516]

细菌菌株	裸露的Si	包覆有肽的Si
------	-------	---------



	大肠杆菌	1.1X10 <sup>5</sup>	1.3X10 <sup>3</sup>
[0517]	表2:Si的每cm <sup>2</sup> CFU		
[0518]	表面覆盖度		
[0519]	为建立肽覆盖基底的能力,以使得胺基将位于与DOPA不毗邻的位置的方式合成肽8。然后,肽通过肽的胺末端与荧光素缀合并且通过浸涂沉积在钛基底上。结果指示来自裸露的钛基底的荧光信号的不存在和来自改性的表面的强的信号。这指示肽确实包覆基底。		

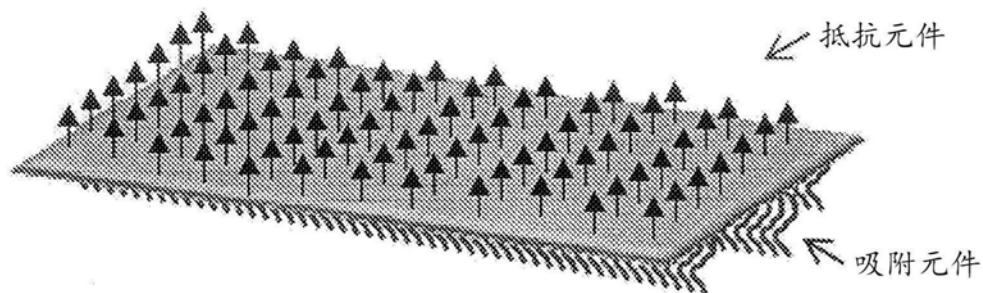


图1

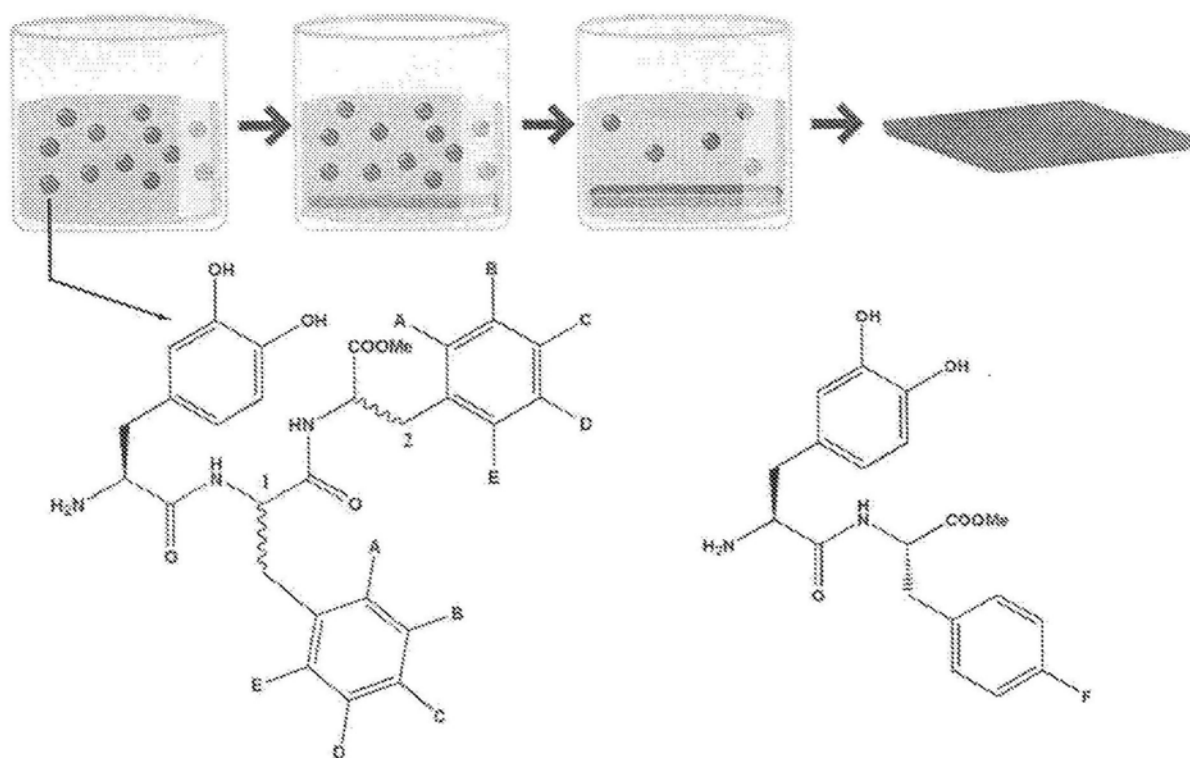


图2

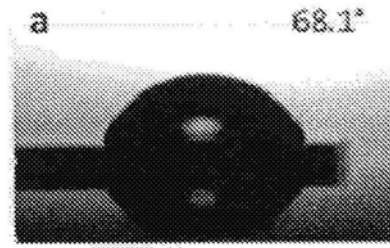


图3A

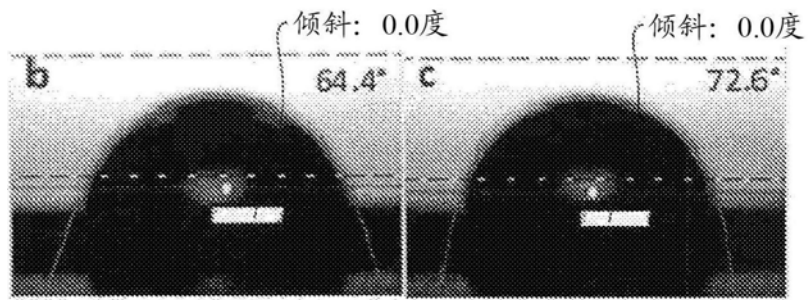


图 3B

图 3C

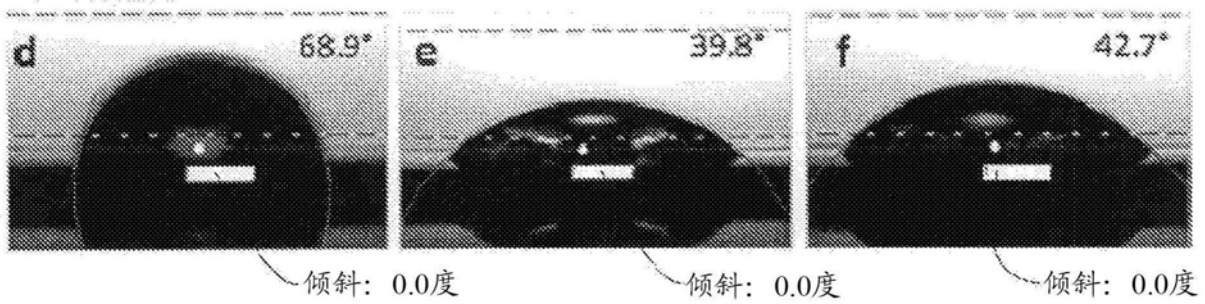


图 3D

图 3E

图 3F

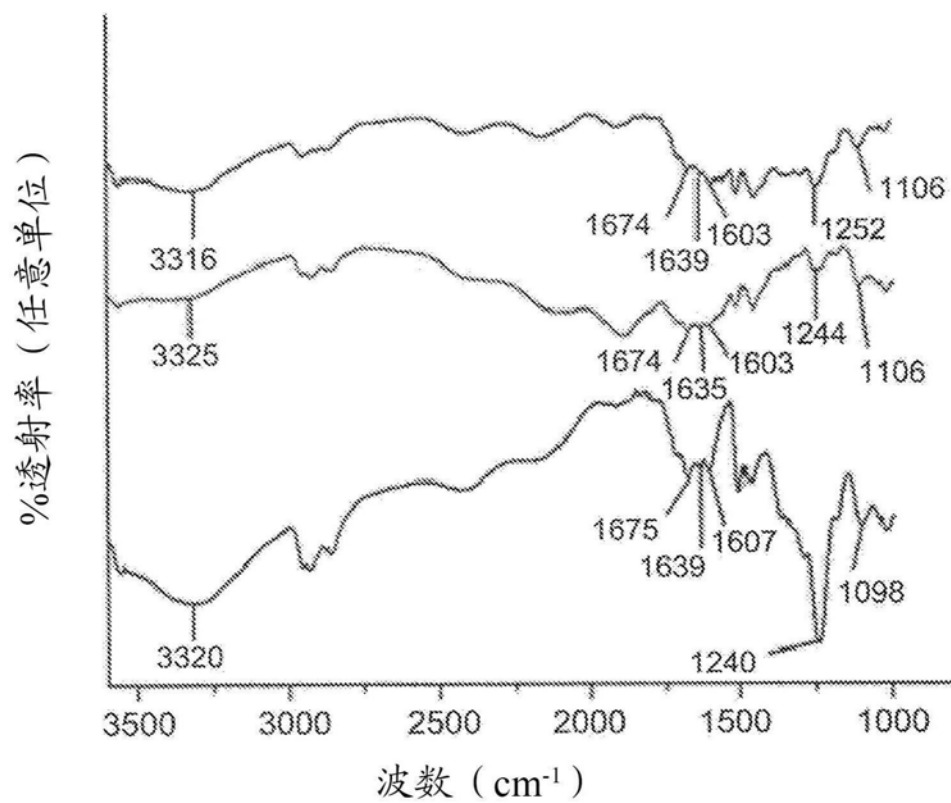


图4



图5A

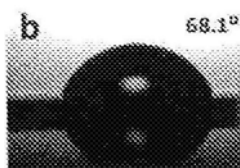


图5B

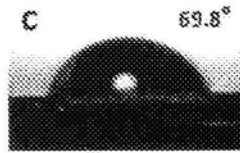


图5C



图5D

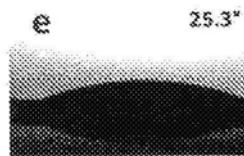


图5E



图5F



图5G

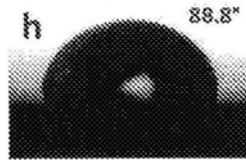


图5H

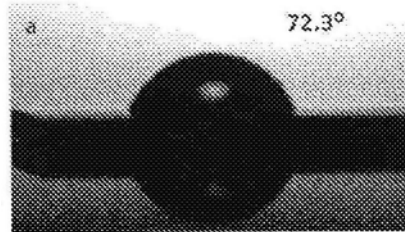


图6A

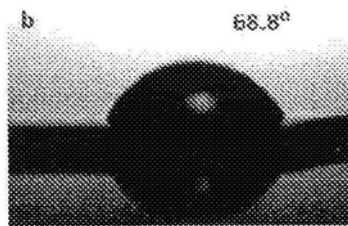


图6B

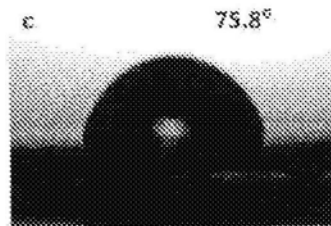


图6C

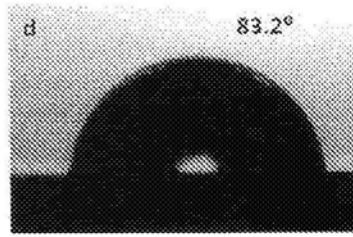


图6D

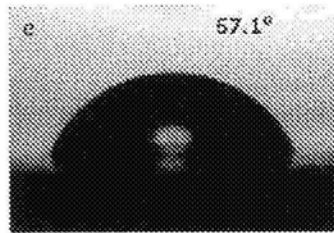


图6E



图7A



图7B

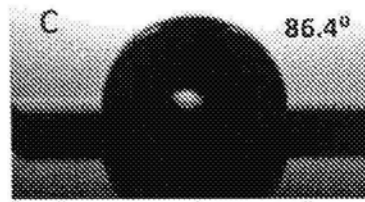


图7C

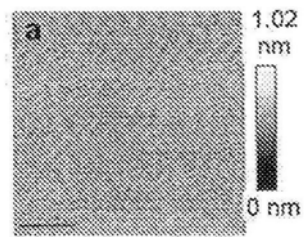


图8A

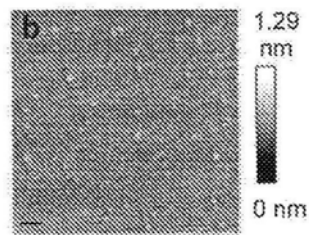


图8B

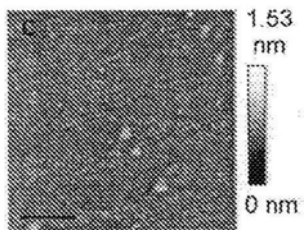


图8C



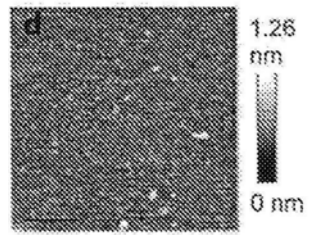


图8D

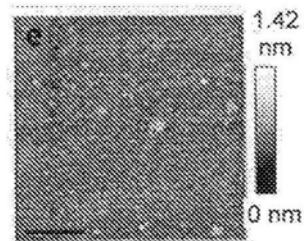


图8E

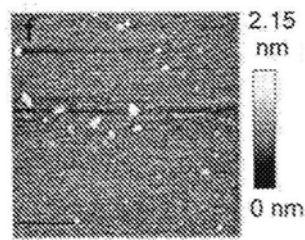


图8F

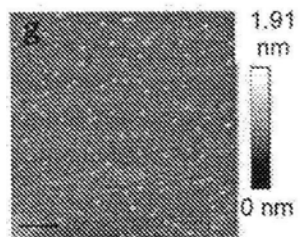


图8G

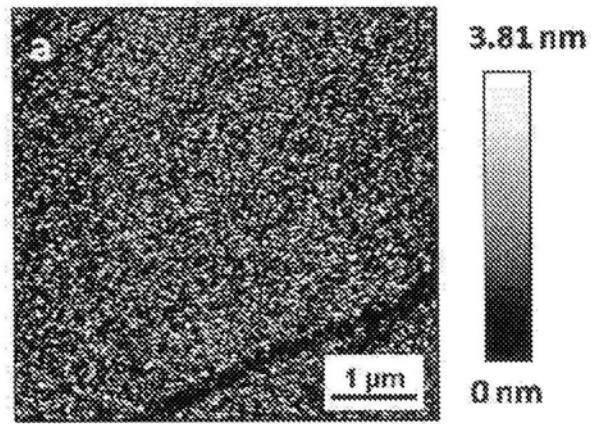


图9A

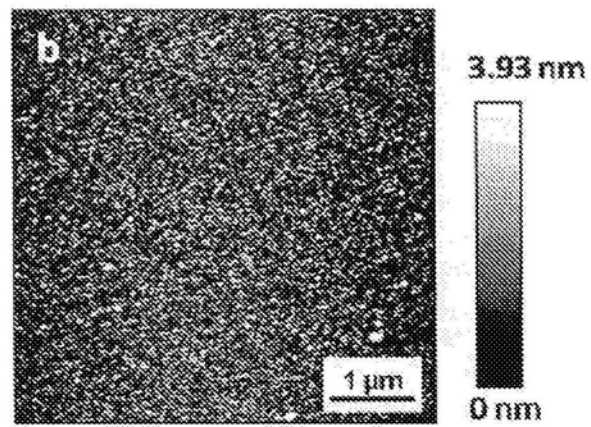


图9B

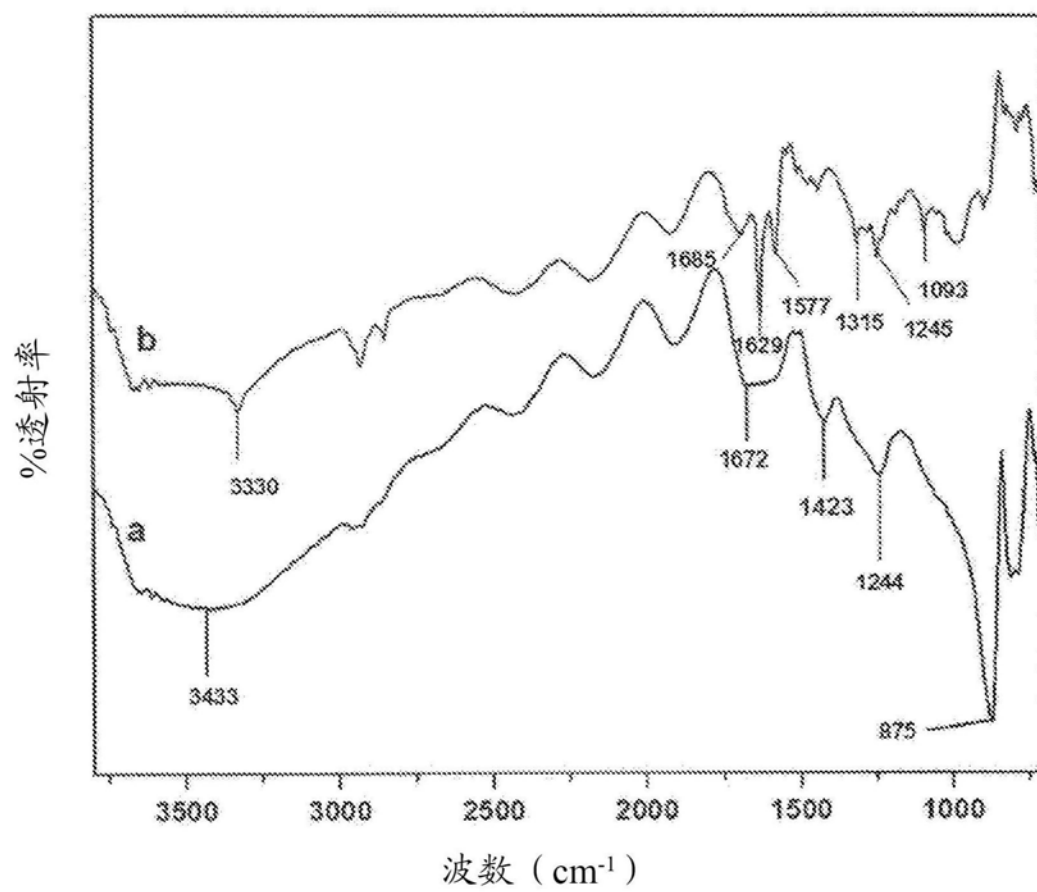


图10

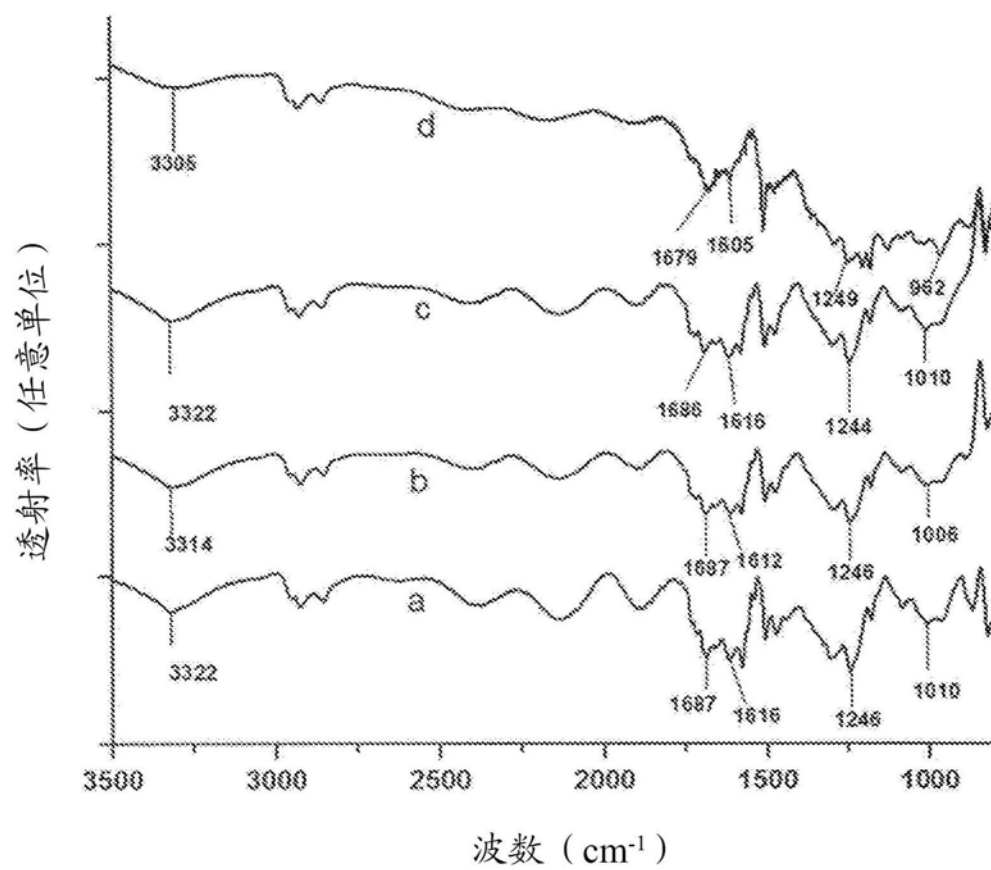


图11

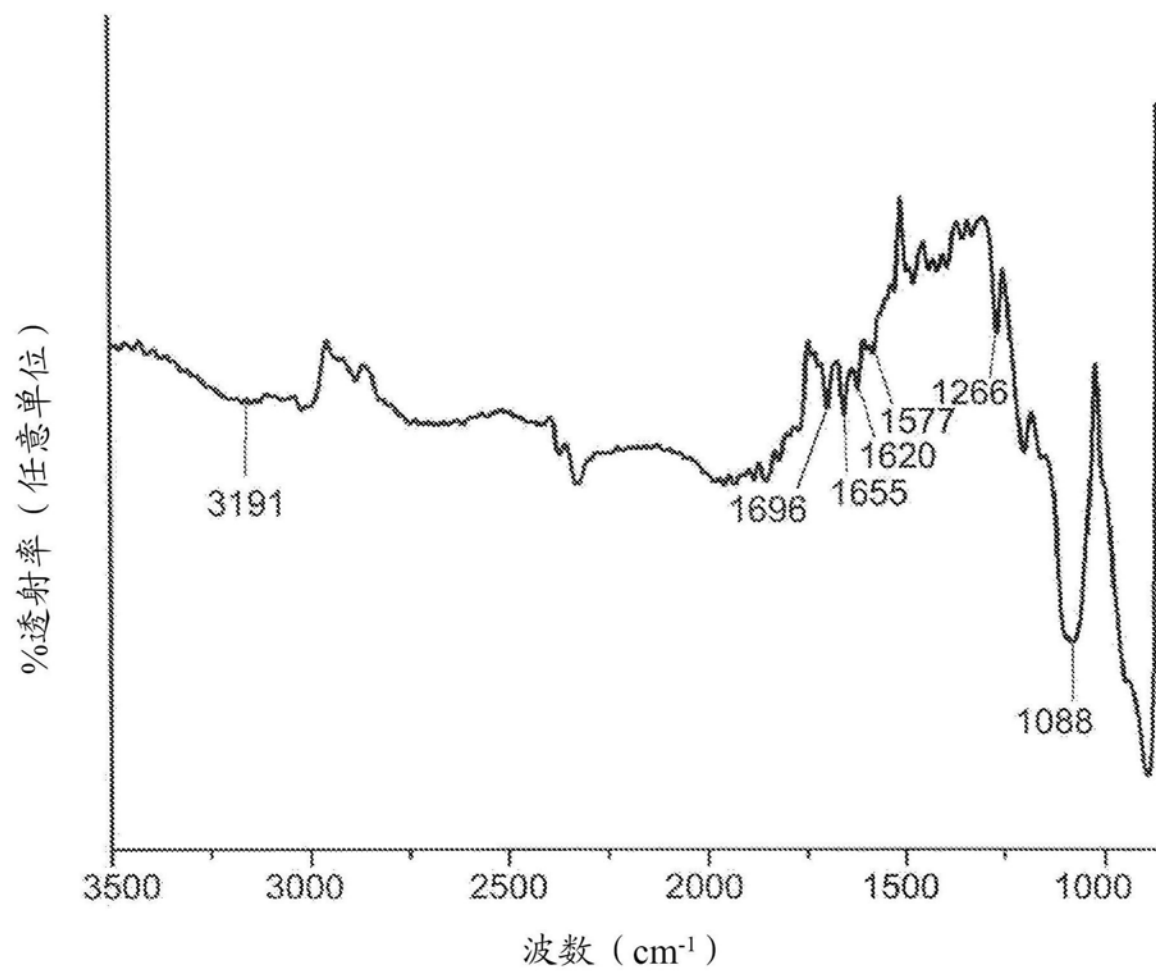


图12

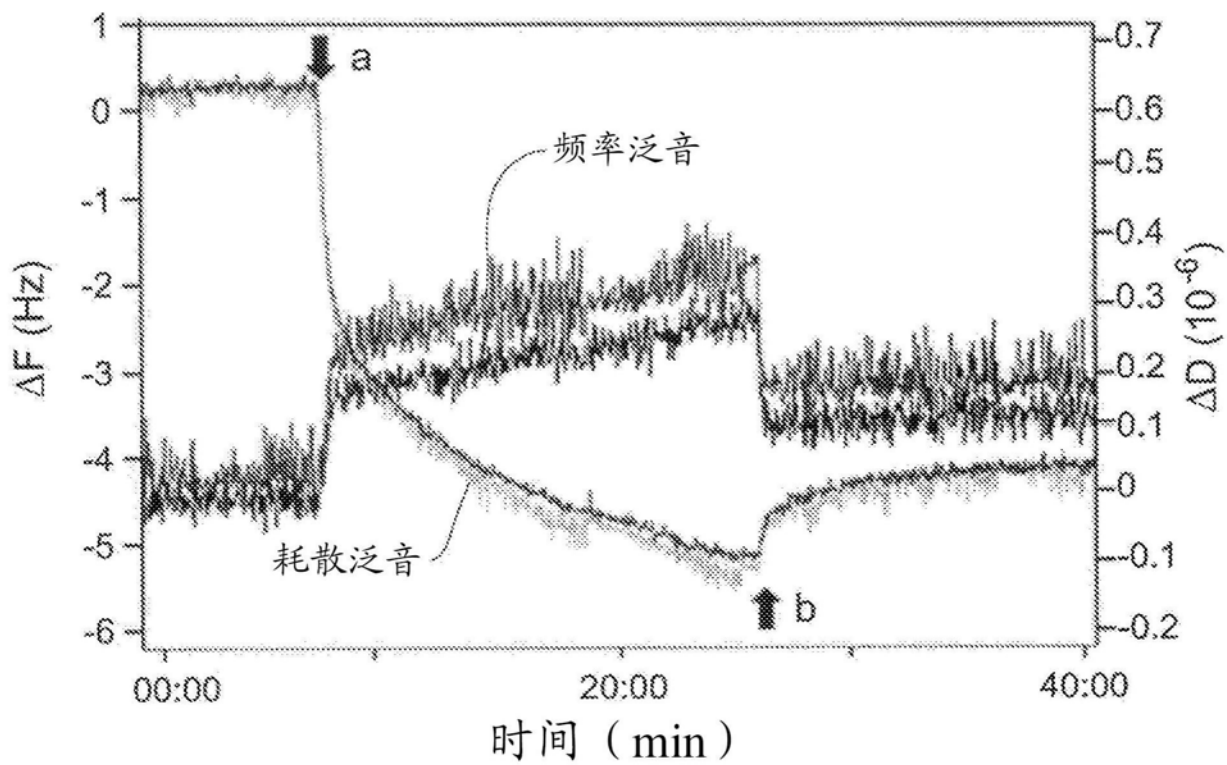


图13

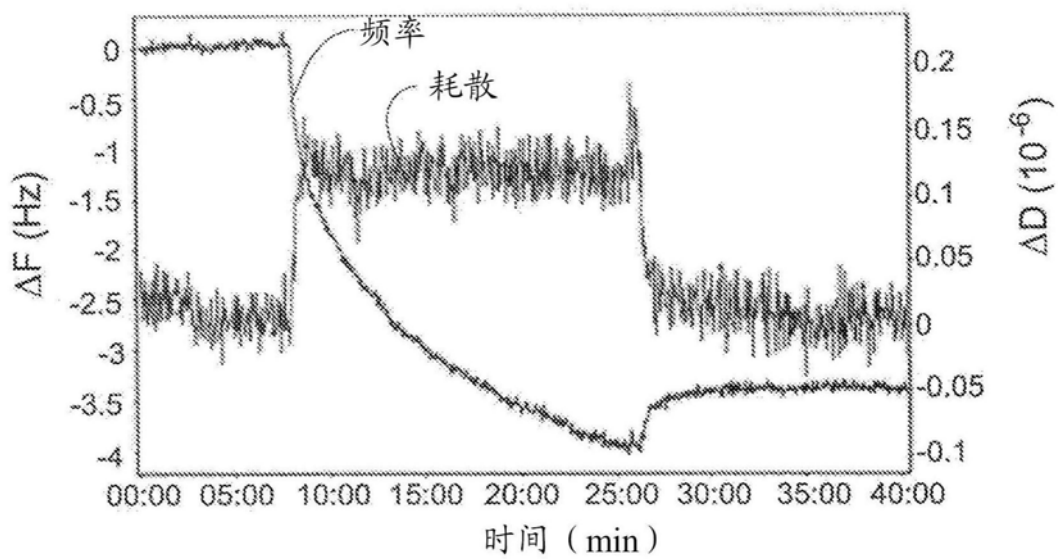


图14A

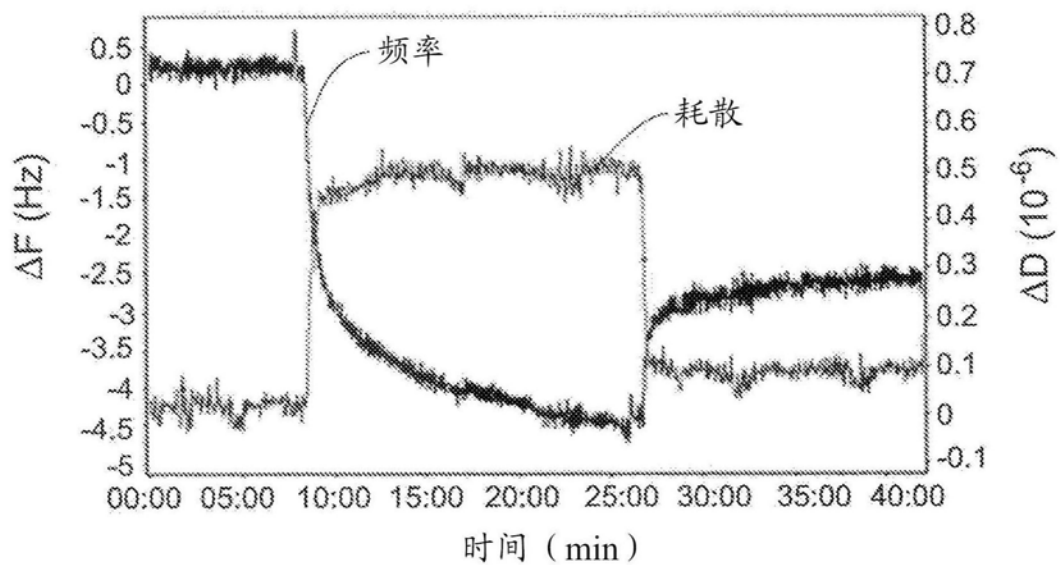


图14B

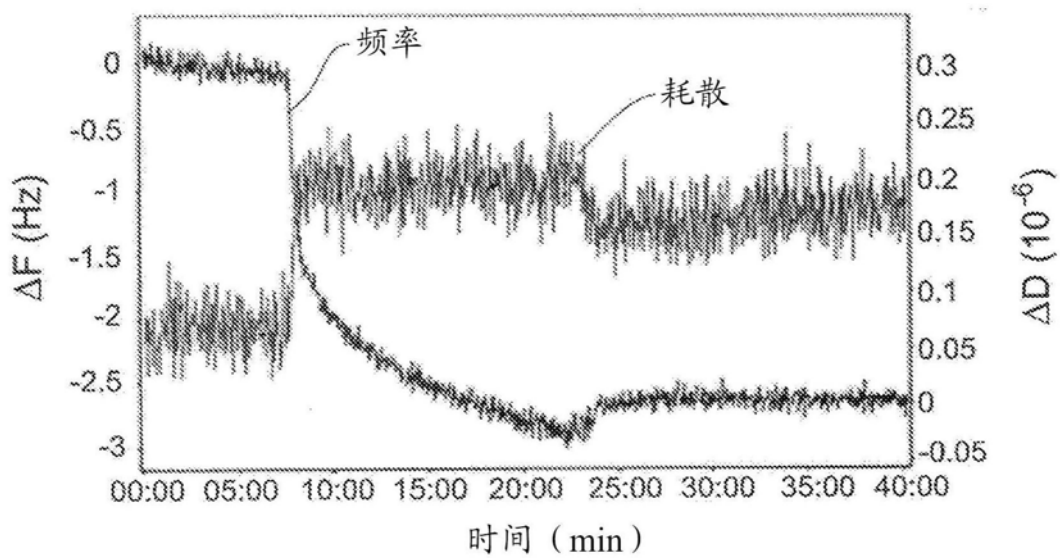


图14C

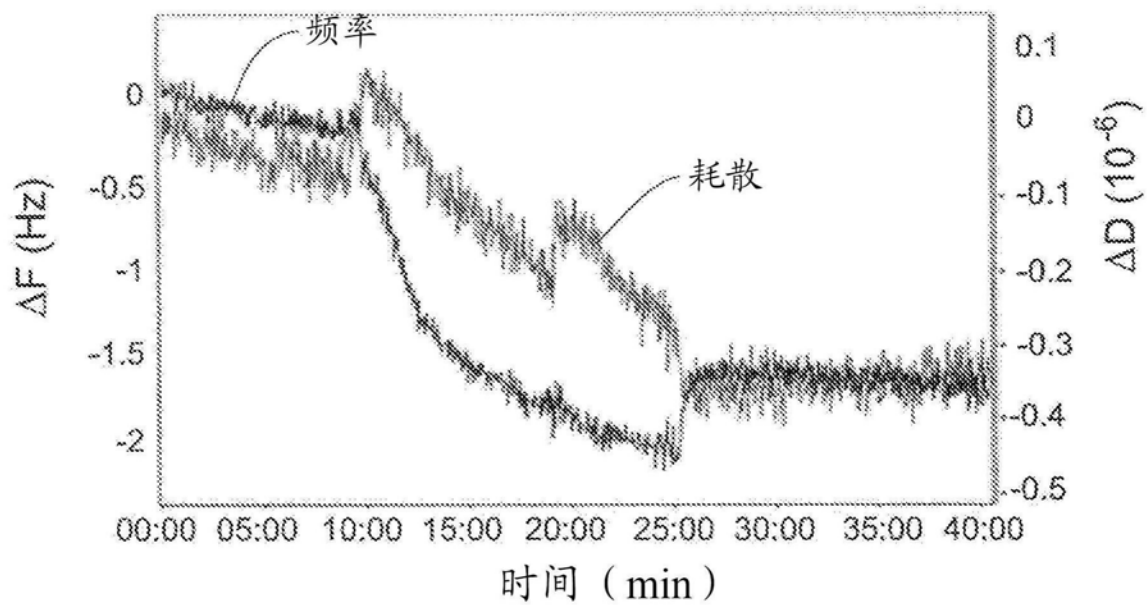


图14D

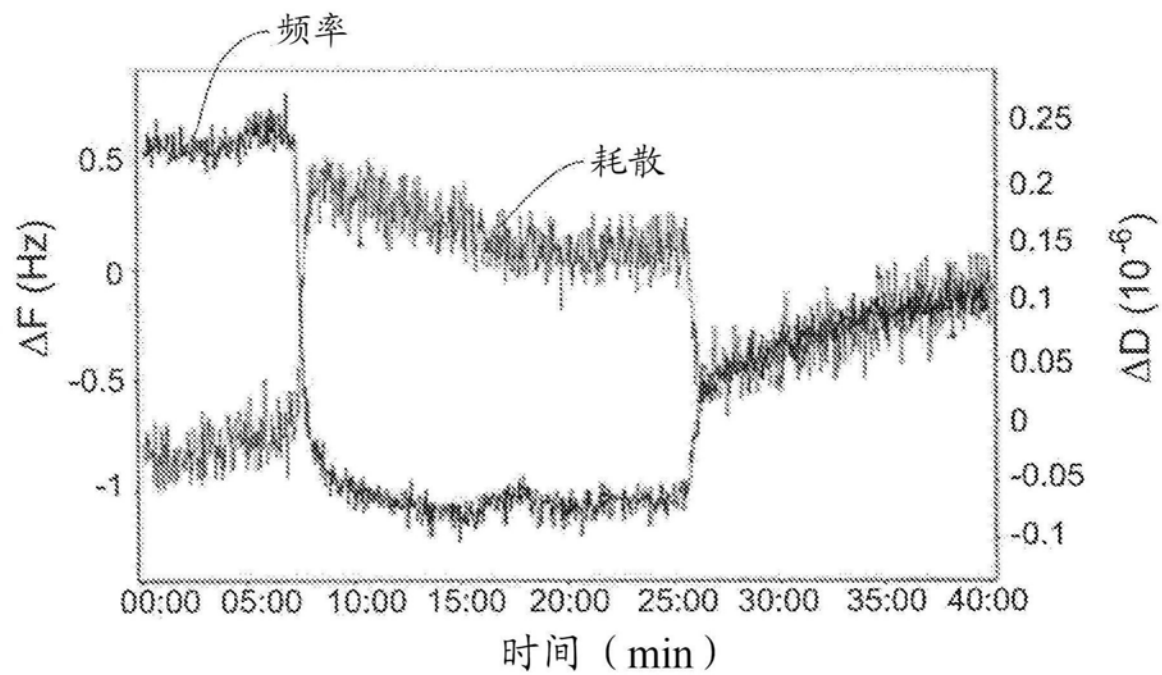


图14E



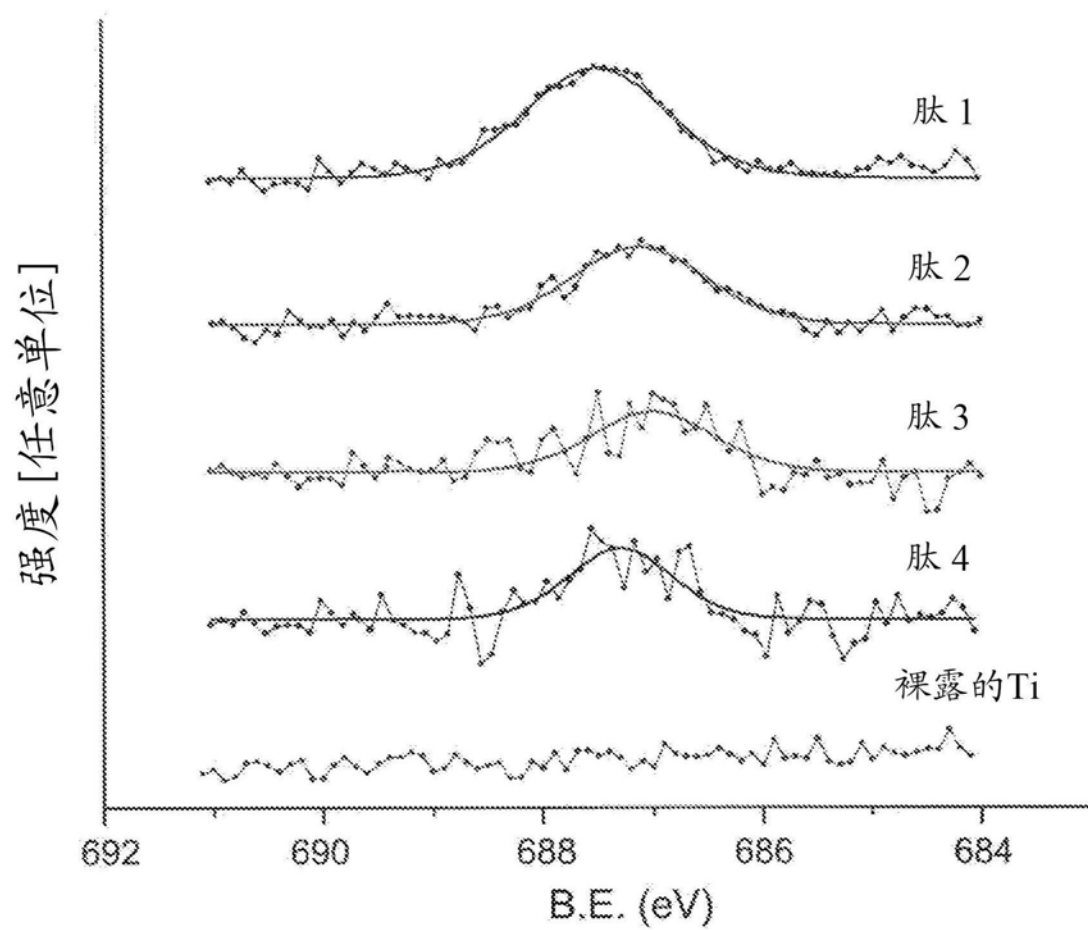


图15

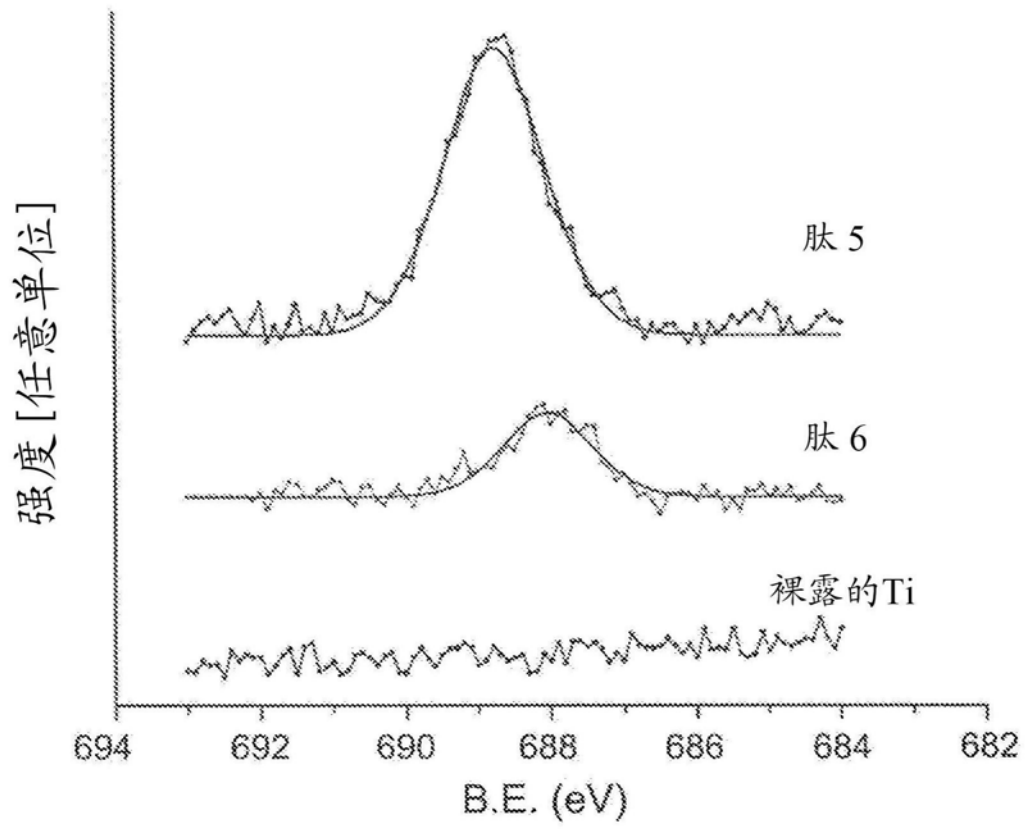


图16

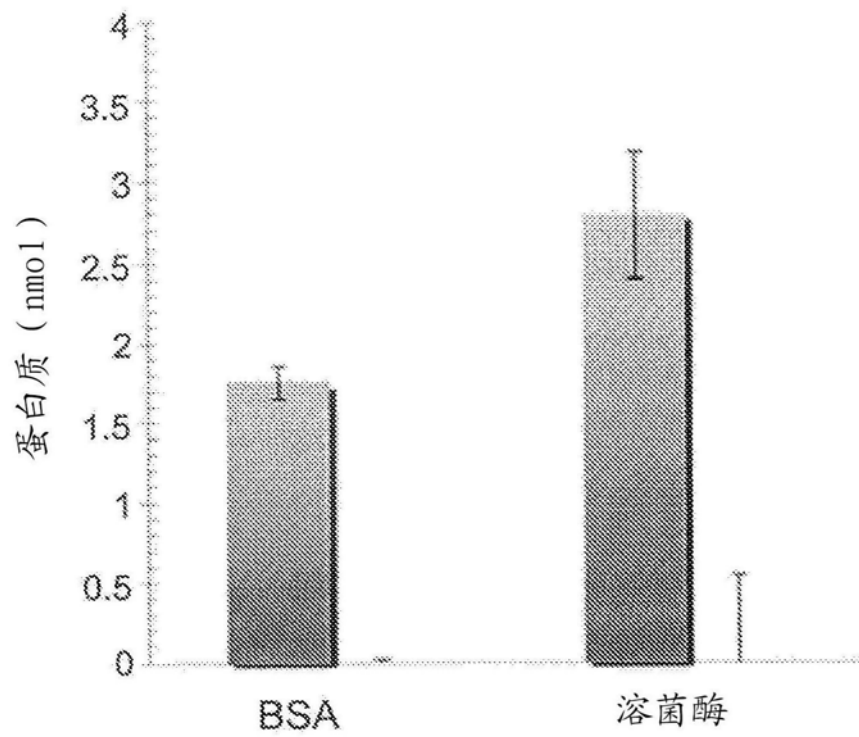


图17

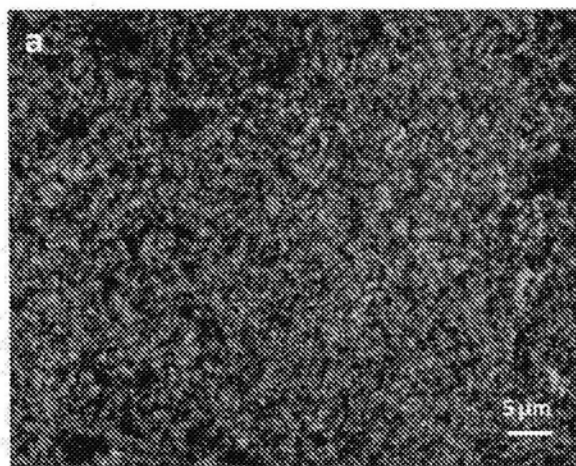


图18A

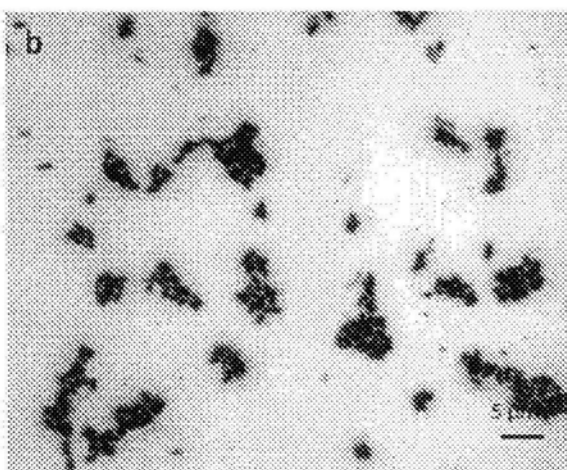


图18B

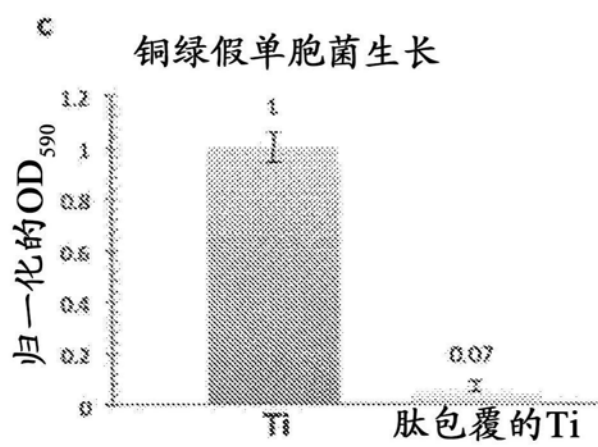


图18C

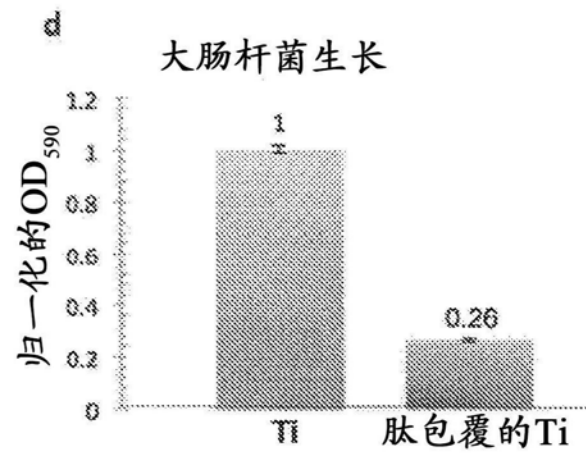


图18D

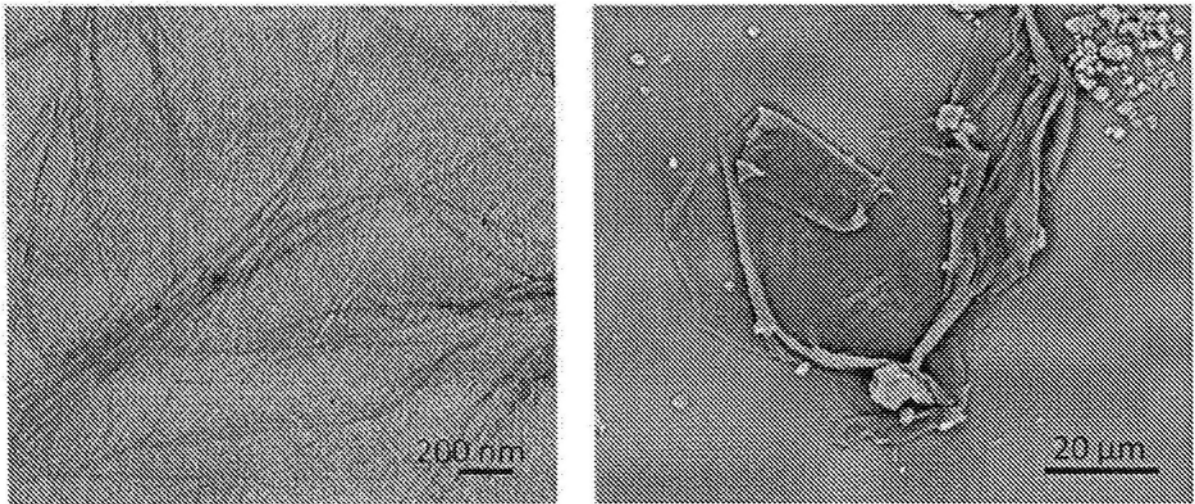


图19